

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**CARMEM MARIA SALES BONFIM**

**ANÁLISE DAS COMPLICAÇÕES TARDIAS APÓS O TRANSPLANTE DE  
CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS EM PACIENTES COM ANEMIA  
DE FANCONI**

**CURITIBA**

**2014**

**CARMEM MARIA SALES BONFIM**

**ANÁLISE DAS COMPLICAÇÕES TARDIAS APÓS O TRANSPLANTE DE  
CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS EM PACIENTES COM ANEMIA  
DE FANCONI**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração: Hematologia e Oncologia Pediátrica.**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Neiva Isabel  
Rodrigues Magdalena**

**CURITIBA**

**2014**

Bonfim, Carmem Maria Sales

Análise das complicações tardias após o transplante de células-tronco  
hematopoéticas em pacientes com Anemia de Fanconi / Carmem Maria Sales Bonfim.

-- Curitiba, 2014.

108 f.; il.; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Pasquini

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Neiva Isabel Rodrigues Magdalena

Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do  
Adolescente. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

1. Anemia de Fanconi. 2. Neoplasias. 3. Doença Enxerto-Hospedeiro.  
I. Pasquini, Ricardo. II. Título.

NLM WH 380



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE



*Programa de Pós-Graduação Mestrado e Doutorado  
em Saúde da Criança e do Adolescente*

## *Parecer*

A banca examinadora, instituída pelo colegiado do **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO - MESTRADO E DOUTORADO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE**, do Setor de Ciências Saúde, da Universidade Federal do Paraná, após arguir a Doutoranda

*Carmem Maria Sales Bonfim,*

em relação ao seu trabalho de Tese de Doutorado intitulado:

**“ANÁLISE DAS COMPLICAÇÕES TARDIAS APÓS O TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS EM PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI”**

é de parecer favorável à *Aprovação* da acadêmica, habilitando-a ao título de *Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente*, Área de concentração em *Hematologia-Oncologia Pediátrica*.

Curitiba, 27 de novembro de 2014.

*Professor Ricardo Pasquini*  
UFPR, Orientador e Presidente da Banca Examinadora.

*Professor Waldir Veiga Pereira*  
UFSM, Primeiro Examinador.

*Professora Lucia Mariano da Rocha Silla*  
UFRGS, Segunda Examinadora.

*Professor Nelson Hamerschlag*  
AE, Terceiro Examinador.

*Professor Afonso Celso Vigorito*  
UNICAMP, Quarto Examinador.

*Professora Mônica Nunes Lima Cat*  
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação - Mestrado e Doutorado em Saúde da Criança e do Adolescente

*À minha família, que sempre esteve ao meu lado e  
que com muito amor, me ensinou a ter honestidade,  
ética, respeito e compaixão pelo próximo.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e Adolescente do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade concedida.

Ao Prof. Dr. Ricardo Pasquini, agradeço pelas incontáveis horas dedicadas à correção desta tese. Os seus ensinamentos moldaram definitivamente a minha vida profissional e mostraram a importância de manter o paciente como foco principal de tudo o que faço.

À Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Neiva Isabel Rodrigues Magdalena, co-orientadora desta tese, pelos comentários, sugestões e correções deste trabalho.

Ao Dr. Lisandro Ribeiro, amigo e companheiro, excelente médico e por quem tenho grande admiração e respeito. Obrigada pelo apoio!

À Dr.<sup>a</sup> Adriana Koliski, pelo apoio e amizade. Sua dedicação e competência ajudaram a construir um Serviço de Transplante Pediátrico que se tornou uma referência nacional e internacional.

À Daniela Pilonetto, pela amizade e incentivo e pela sua grande dedicação aos pacientes com Anemia de Fanconi.

À minha equipe de Transplante Pediátrico, pelo grande apoio para a realização deste estudo, pela dedicação aos pacientes e pela competência. Tenho orgulho de trabalhar com todos vocês!

À Dr.<sup>a</sup> Mariester Malvezzi e à Dr.<sup>a</sup> Mary Evelyn Flowers que ao longo de tantos anos me deram o apoio necessário, conselhos inestimáveis e contribuições para toda a minha vida pessoal e profissional.

Ao Dr. Marco Antonio Bitencourt, pelo desenvolvimento do programa de atendimento aos pacientes com Anemia de Fanconi e pelos seus comentários e sugestões para este trabalho.

Ao Dr. Marcelo Pasquini e à Dr.<sup>a</sup> Mary Eapen pelas discussões muito produtivas e pelos comentários em relação a este trabalho.

À *Data-Manager* Heliz Neves, pela manutenção de um excelente banco de dados e pela dedicação ao STMO do HC-UFPR.

Ao Serviço de Transplante de Medula Óssea do HC-UFPR: médicos, enfermeiros, secretários, administradores, assistentes sociais, nutricionistas, psicólogos, terapeuta ocupacionais, farmacêuticos, biólogos, e bioquímicos. Sem vocês este trabalho não teria sido possível.

Ao Laboratório de Imunogenética em especial à Dra Noemi Farah Pereira, Márcia Quiroga, Miriam Beltrame e Miriam Barbosa pelo exemplo de dedicação, competência e responsabilidade pelos pacientes.

Ao Ricardo Petterle pela análise estatística dos dados.

Ao Instituto TMO - Associação Alírio Pfiffer pelo apoio fundamental na formação de vários médicos, enfermeiros e demais profissionais do STMO do HC-UFPR. Este apoio foi essencial para o nosso desenvolvimento e muito importante para a vida dos pacientes com Anemia de Fanconi.

Ao *St Jude Children's Research Hospital - International Outreach Program*, pelo auxílio financeiro ao diagnóstico dos pacientes com Anemia de Fanconi.

Aos meus pais, Heloísa e Airton que me guiaram para o sucesso e sempre confiaram na minha capacidade.

Ao meu marido Flávio, amor da minha vida, parceiro e companheiro de todos os momentos. Seu apoio, carinho, respeito e admiração tornaram a minha vida completa e feliz.

Aos meus filhos Marcelo e Júlia por terem me ensinado que o amor não tem tamanho ou definição e por terem aceitado dividir o nosso tempo de convívio com tantas outras crianças.

Aos pacientes e suas famílias, pela confiança depositada em nosso serviço durante todos estes anos.

À todos os outros que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

*Para ser grande, sê inteiro. Nada teu exagera  
ou excluí. Sê todo em cada coisa. Põe quanto  
és no mínimo que fazes. Assim em cada lago  
a lua toda brilha, porque alta vive..*

Fernando Pessoa



## RESUMO

A anemia de Fanconi (AF) é herdada de maneira autossômica recessiva, excepcionalmente ligada ao cromossomo X e caracterizada por uma falência progressiva de medula óssea, malformações congênitas e uma enorme predisposição ao câncer. O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) é a única possibilidade de cura para as complicações hematológicas da AF. Os resultados do transplante são excelentes especialmente nos pacientes jovens, em fase de aplasia e com doadores aparentados compatíveis. No entanto, existem poucos dados na literatura em relação às complicações tardias após o TCTH nestes pacientes. Este estudo compreende a avaliação de 157 pacientes que sobreviveram pelo menos 2 anos após o TCTH, cujo seguimento variou de 2 a 25 anos (Mediana de 8,7 anos) e que foram transplantados no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná entre 1988 e 2011. No momento do transplante, 80% dos pacientes encontravam-se em fase de aplasia, 71% foram transplantados com doadores aparentados e 29% com doadores não aparentados. Diversos regimes de condicionamento foram utilizados e a medula óssea foi a fonte de células-tronco em 89% dos casos. Quimerismo completo foi observado em 76% dos casos e a rejeição ocorreu em apenas um paciente após os dois anos. Aos dois anos pós-TCTH, 16 pacientes apresentavam DECH crônica em atividade e 16 estavam em uso de tratamento imunossupressor. A incidência cumulativa do carcinoma espinocelular (CEC) de cavidade oral foi de 8% aos 10 anos e 14% aos 15 anos pós-TCTH. Apenas 2 dos 12 pacientes com CEC estão vivos após 5 anos do diagnóstico do câncer, sem evidência de doença. Os pacientes com DECH crônica desenvolveram o CEC mais jovens e numa fase mais precoce após o TCTH do que aqueles sem DECH crônica. Nos pacientes avaliáveis, o hipotireoidismo foi detectado em 25% e o hipogonadismo em 40%. Ao todo, 4 mulheres tiveram gestações normais com fetos saudáveis. Outras complicações neurológicas, auditivas, visuais, pulmonares, hepáticas e renais relacionadas ao procedimento do transplante ou à doença básica também foram descritas em menor frequência. A probabilidade de sobrevida aos cinco anos foi de 95%, aos 10 anos de 90% e aos 15 anos de 79%. A sobrevida global foi influenciada de maneira negativa pela realização de transplantes antes de 2003, pela presença de DECH crônica e pelo diagnóstico do CEC. A maior causa de óbito foi o CEC de cavidade oral seguida pela DECH crônica e suas complicações infecciosas. Esta análise confirma que o TCTH é um tratamento eficaz para os pacientes com AF. A sobrevida foi melhor para os pacientes transplantados recentemente e para aqueles que não tinham DECH ou câncer. A maioria dos pacientes que sobreviveram mais do que 2 anos tinham uma vida normal e com um quimerismo completo. Mais esforços são necessários para diminuir o impacto das complicações tardias relacionadas a doença ou ao procedimento do transplante. A prevenção ou detecção precoce do CEC pode levar a um aumento na sobrevida no futuro.

**Palavras-chave:** Anemia de Fanconi. Complicações tardias. Câncer. Doença do enxerto contra o hospedeiro.

## ABSTRACT

Fanconi Anemia (FA) is an autosomal recessive disorder rarely X-linked, characterized by progressive bone marrow failure, congenital abnormalities and a striking predisposition to cancer. Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only treatment able to cure the hematological complications associated with FA. Survival after transplant is excellent especially in young patients with aplastic anemia and matched related donors. However, only limited data are available regarding late complications after HSCT for these patients. This study evaluated late effects among 157 patients followed between 2 and 25 years (median 8.7 years) who survived for at least 2 years after transplant. These patients were transplanted at the Hospital de Clínicas - Federal University of Parana between 1988 and 2011. At the time of transplant, 80% of patients were in aplastic phase, 71% received transplants from related donors while 29% were transplanted using unrelated donors. Several preparatory regimens were used and bone marrow was the stem cell source in 89% of patients. Full donor chimerism was observed in 76% of patients and only one patient rejected after 2 years. At the time of study entry, 16 patients had active chronic GVHD and 16 patients were still receiving immunosuppressive therapy. The probability of survival was 95% at 5 years, 90% at 10 years and 79% at 15 years. Overall survival was negatively impacted by transplants performed before 2003, presence of chronic GVHD and diagnosis of squamous cell carcinoma (SCC). The cumulative incidence of SCC of the mouth at 10 years was 8% and at 15 years was 14%. Only 2 patients with SCC are alive, disease free, 5 years after diagnosis. Patients with GVHD developed this complication at a younger age and earlier after transplant when compared to patients who did not have GVHD. In evaluable patients, 25% had hypothyroidism and 40% had the diagnosis of hypogonadism. Normal pregnancies occurred in 4 females with normal offsprings. Other neurological, auditory, visual, pulmonary, hepatic and renal complications related to the disease or to the transplant procedure were also described in a lower frequency. SCC of the mouth was the major cause of death followed by GVHD and its infectious complications. In summary, this analysis confirms that HSCT is an effective treatment for patients with FA. Survival was better for patients transplanted more recently and without chronic GVHD or SCC. The majority of patients who survived beyond 2 years after transplantation had normal lives and full donor chimerism. Further efforts are needed to reduce the burden of late complications related to the disease or to the transplant procedure. Prevention or early detection of SCC may yield further improvement in survival in the future.

**Keywords:** Fanconi anemia. Late complications. Graft versus Host Disease. Cancer. Long term follow up.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	IMAGEM ORIGINAL EXIBIDA EM UMA AULA DE GUIDO FANCONI E QUE EVIDENCIA DOIS DOS TRÊS PRIMEIROS PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI, ASSIM COMO SUA ÁRVORE GENEALÓGICA.....	24
FIGURA 2 -	VIA DA ANEMIA DE FANCONI .....	26
FLUXOGRAMA 1 -	TOTAL DE PACIENTES TRANSPLANTADOS NO PERÍODO DE 1983 A 2011 E SUA DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COM A SOBREVIVÊNCIA (< OU ≥ 2 ANOS) E O TIPO DE TRANSPLANTE REALIZADO .....	46
FIGURA 3 -	SOBREVIVÊNCIA GLOBAL APÓS DOIS ANOS DE TRANSPLANTE NOS 157 PACIENTES TRANSPLANTADOS.....	55
FLUXOGRAMA 2 -	CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DECH CRÔNICA DE ACORDO COM OS CRITÉRIOS DO <i>NIH</i> .....	60
FIGURA 4 -	INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE DECH CRÔNICA AOS DOIS ANOS PÓS-TCTH .....	61
FIGURA 5 -	INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE CÂNCER NOS 157 PACIENTES .....	65

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - NÚMERO DE PACIENTES TRANSPLANTADOS COM AF NO STMO DO HC-UFPR ENTRE 1983 E 2011 .....	45
GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS 157 PACIENTES POR REGIÃO DO PAÍS .....	47
GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE PACIENTES VIVOS, DE ACORDO COM A IDADE NA DATA DO ÚLTIMO CONTATO .....	57
GRÁFICO 4 - ANÁLISE DO QUIMERISMO NOS 147 PACIENTES AVALIADOS PÓS TRANSPLANTE .....	58
GRÁFICO 5 - ÓRGÃOS/SÍTIOS ENVOLVIDOS PELA DECH CRÔNICA NOS 32 PACIENTES AOS DOIS ANOS PÓS-TRANSPLANTE ...	60
GRÁFICO 6 - ALTERAÇÃO DA FUNÇÃO GONADAL PÓS-TCTH DE ACORDO COM O SEXO DO PACIENTE (131 PACIENTES AVALIÁVEIS) .....	68
GRÁFICO 7 - NÚMERO DE PACIENTES E CAUSAS DE ÓBITO APÓS DOIS ANOS DE TCTH.....	72

## LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 -	GRUPOS DE COMPLEMENTAÇÃO E OS GENES RESPONSÁVEIS PELA ANEMIA DE FANCONI .....	25
QUADRO 2 -	ANORMALIDADES FÍSICAS EM PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI .....	27

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS 157 PACIENTES QUE SOBREVIVERAM $\geq 2$ ANOS PÓS-TCTH.....	48
TABELA 2 -	CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE NOS 157 PACIENTES...	49
TABELA 3 -	CARACTERÍSTICAS DOS REGIMES DE CONDICIONAMENTO UTILIZADOS NO PRIMEIRO TRANSPLANTE DOS 157 PACIENTES .....	50
TABELA 4 -	REGIMES DE CONDICIONAMENTO UTILIZADOS NO SEGUNDO E TERCEIRO TRANSPLANTE.....	50
TABELA 5 -	FATORES QUE INFLUENCIARAM A SOBREVIDA GLOBAL: ANÁLISE UNIVARIADA .....	56
TABELA 6 -	ANÁLISE MULTIVARIADA DOS FATORES QUE TIVERAM IMPACTO NA SOBREVIDA .....	57
TABELA 7 -	ANÁLISE UNIVARIADA DOS FATORES QUE INFLUENCIARAM A INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE DECH CRÔNICA.....	61
TABELA 8 -	ANÁLISE MULTIVARIADA (MODELO DE COX) DOS FATORES QUE INFLUENCIARAM A INCIDÊNCIA DA DECH CRÔNICA.....	62
TABELA 9 -	CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES QUE DESENVOLVERAM UM CEC DE CAVIDADE ORAL PÓS-TCTH .....	64
TABELA 10 -	INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE CÂNCER DE ACORDO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DECH.....	65
TABELA 11 -	ANÁLISE MULTIVARIADA EM RELAÇÃO AO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER .....	65
TABELA 12 -	IDADE DO APARECIMENTO DO CÂNCER E TEMPO DE SEGUIMENTO PÓS-TCTH .....	66
TABELA 13 -	OUTROS TIPOS DE CÂNCER ENCONTRADOS NOS 157 PACIENTES TRANSPLANTADOS .....	66
TABELA 14 -	DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM FUNÇÃO TIREOIDIANA NORMAL PÓS-TCTH E DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM HIPOTIREOIDISMO .....	67

TABELA 15 - DESENVOLVIMENTO PUBERAL ANORMAL OU FUNÇÃO GONADAL ALTERADA DE ACORDO COM O SEXO DO PACIENTE.....	69
TABELA 16 - CARACTERÍSTICAS DAS PACIENTES QUE TIVERAM GESTAÇÕES NESTE ESTUDO .....	70
TABELA 17 - COMPLICAÇÕES TARDIAS PÓS-TCTH.....	71
TABELA 18 - CAUSAS DE ÓBITO DE ACORDO COM O PERÍODO PÓS-TCTH .....	72

## LISTA DE SIGLAS

AAS	- Anemia Aplástica Grave
AF	- Anemia de Fanconi
ALDH2	- Enzima Aldeído Desidrogenase 2
BRCA1	- <i>Breast Cancer Suscetibility Gene 1</i>
BRCA2	- <i>Breast Cancer Suscetibility Gene 2</i>
CEC	- Carcinoma Espinocelular
CFA	- Ciclofosfamida
CIBMTR	- <i>Center for International Blood and Marrow Transplant Research</i>
DEB	- Diepoxibutano
DECH	- Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro ou Graft Versus Host Disease (GVHD)
DNA	- <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
FA	- Fanconi Anemia
FANCA	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo A
FANCB	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo B
FANCC	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo C
FANCD1	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo D1
FANCD2	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo D2
FANCE	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo E
FANCF	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo F
FANCG	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo G
FANCI	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo I
FANCI	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo J
FANCL	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo L
FANCM	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo M
FANCO	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo O
FANCP	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo P
FANCQ	- Proteína da Anemia de Fanconi do Grupo Q
FSH	- Hormônio Folículo estimulante
G-CSF	- Fator Estimulador de Granulócitos
GH	- Hormônio de Crescimento



HC-UFPR	- Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
HPV	- <i>Human Papiloma Virus</i>
HSCT	- <i>Hematopoietic Stem Cell Transplantation</i>
IFAR	- <i>International Fanconi Anemia Registry</i>
LH	- Hormônio Luteinizante
LMA	- Leucemia Mieloide Aguda
MMC	- Mitomicina
NIH	- <i>National Institute of Health</i>
QI	- Coeficiente de Inteligência
SCC	- <i>Squamous Cell Carcinoma</i>
SMD	- Síndrome Mielodisplásica
STMO	- Serviço de Transplante de Medula Óssea
STR	- <i>Short Tandem Repeats</i>
T4 L	- Tiroxina Livre
TCTH	- Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas
TMO	- Transplante de Medula Óssea
TSH	- Hormônio Estimulante da Tireoide
VNTR	- <i>Variable Number of Tandem Repeats</i>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	19
1.1 OBJETIVOS	22
1.1.1 Objetivo principal	22
1.1.2 Objetivos secundários	22
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b>	23
2.1 HETEROGENEIDADE GENÉTICA	24
2.2 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	26
2.3 DEFEITOS NO DESENVOLVIMENTO	27
2.4 DEFEITOS NAS CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS	28
2.5 DEFEITOS NAS CÉLULAS-TRONCO GERMINATIVAS	29
2.6 PREDISPOSIÇÃO AO CÂNCER	29
2.7 DIAGNÓSTICO	30
2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL	32
2.9 TRATAMENTO	32
2.10 COMPLICAÇÕES TARDIAS PÓS-TCTH	34
2.10.1 Complicações endocrinológicas	36
2.10.2 Complicações cardiovasculares	39
2.10.3 Complicações gastrointestinais	39
2.10.4 Doença do enxerto contra o hospedeiro	40
2.10.5 Câncer	41
2.10.6 Outras complicações tardias	42
<b>3 CASUÍSTICA E MÉTODOS</b>	44
3.1 TIPO DE ESTUDO	44
3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO	44
3.3 CASUÍSTICA	44
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	46
3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	47
3.6 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA	47
3.7 DEFINIÇÕES	51
3.7.1 Diagnóstico da Anemia de Fanconi	51
3.7.2 DECH crônica	51

3.7.3	Quimerismo .....	52
3.7.4	Função gonadal .....	52
3.7.5	Hipotireoidismo .....	53
3.8	MÉTODOS ESTATÍSTICOS .....	53
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>55</b>
4.1	SOBREVIDA GLOBAL.....	55
4.2	ANÁLISE DO QUIMERISMO PÓS-TCTH.....	57
4.3	DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO .....	59
4.4	ANÁLISE DOS PACIENTES QUE DESENVOLVERAM CÂNCER.....	63
4.4.1	Carcinoma Espinocelular (CEC) de cavidade oral.....	63
4.4.2	Outros tipos de câncer.....	66
4.5	COMPLICAÇÕES ENDOCRINOLÓGICAS PÓS-TCTH .....	67
4.5.1	Tireoide.....	67
4.5.2	Gônadas .....	67
4.5.2.1	Descrição da função gonadal pós-TCTH nas mulheres com AF .....	68
4.5.2.2	Descrição da função gonadal pós-TCTH nos homens com AF .....	69
4.5.2.3	Gestações .....	70
4.6	OUTRAS COMPLICAÇÕES TARDIAS.....	70
4.7	CAUSAS DE MORTE .....	71
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>73</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>81</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>83</b>
	<b>APÊNDICES</b> .....	<b>100</b>
	<b>ANEXO</b> .....	<b>107</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A Anemia de Fanconi (AF) é uma doença rara, herdada de maneira autossômica recessiva e raramente ligada ao cromossomo X. Ela é caracterizada por uma falência progressiva da medula óssea, anormalidades congênitas e um risco aumentado de câncer. Na maioria dos pacientes, os primeiros sintomas estão relacionados à trombocitopenia ou leucopenia e ocorrem geralmente a partir dos quatro anos de idade. Após a quarta década de vida, a incidência cumulativa de falência medular é de 90% enquanto que a incidência de neoplasias hematológicas malignas (leucemias ou mielodisplasias) e tumores sólidos (carcinoma escamoso em cabeça e pescoço, pele, trato gastrointestinal e genito-urinário) são de aproximadamente 30%.

Na AF existe uma grande heterogeneidade clínica e os indivíduos podem apresentar desde malformações congênitas extensas e complexas até fenótipos totalmente normais. Além desta diversidade clínica existe também uma grande heterogeneidade genética. O primeiro gene relacionado à AF (*FANCC*) foi clonado em 1992 e desde então outros 15 genes já foram identificados. Estes genes atuam em conjunto em uma via comum que regula o reparo do DNA e mantém a integridade do genoma. A inativação das proteínas que interagem nesta via também tem sido observada em uma grande variedade de cânceres humanos e está implicada na alta taxa de neoplasias nos pacientes com AF (TANIGUCHI; D'ANDREA, 2006; SOULIER, 2011; CROSSAN; PATEL, 2012;).

Na maioria dos pacientes com AF, o diagnóstico é fundamentado na história clínica, nas anormalidades congênitas encontradas no exame físico e é confirmado biologicamente através de testes que avaliam a instabilidade cromossômica. A sensibilidade das células destes pacientes aos agentes indutores de ligações cruzadas do DNA é a característica mais marcante da AF e unifica todos os achados clínicos e laboratoriais encontrados nesta doença (AUERBACH, 2009; GARAYCOECHEA *et al.*, 2012).

O tratamento de suporte para os pacientes que desenvolvem falência medular inclui o uso de andrógenos, fatores de crescimento e transfusões sanguíneas. Atualmente, o único tratamento com perspectiva de cura hematológica é o Transplante

de Células-Tronco Hematopoéticas (TCTH). Este procedimento é indicado quando o paciente apresenta queda progressiva dos índices hematológicos e deve ser realizado, de preferência, antes que a primeira transfusão de sangue ocorra. As chances de cura são de aproximadamente 90% quando o paciente é jovem, tem um irmão compatível e a doença encontra-se em fase de aplasia. Os resultados dos transplantes que utilizam doadores não aparentados melhoraram de maneira espetacular na última década e se aproximam daqueles observados nos TCTH entre irmãos (MYERS; DAVIES, 2009; MacMILLAN *et al.*, 2011). Apesar da cura hematológica proporcionada pelo TCTH, a AF é uma doença sistêmica e todos os pacientes necessitam de acompanhamento médico por toda a vida, independente do tratamento recebido. O aumento da sobrevida também evidenciou uma série de complicações tardias relacionadas à doença de base e às terapias empregadas.

O primeiro transplante de medula óssea foi realizado na América Latina em 1976, na Colômbia, em uma paciente portadora de Anemia Aplástica Severa (RESTREPO, 1985). Apesar de ter sido realizado sem uma unidade de transplante específica a paciente evoluiu muito bem e estava viva até a data do último seguimento. No Brasil, o primeiro transplante foi realizado em outubro de 1979 pelo Serviço de Transplante de Medula Óssea do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (STMO do HC-UFPR) e desde então este serviço já realizou aproximadamente 2200 transplantes alogênicos tornando-se fundamental para o desenvolvimento deste complexo procedimento nesta área geográfica (FERREIRA *et al.*, 1985). Na América Latina, o STMO do HC-UFPR foi pioneiro nos transplantes de sangue de cordão umbilical (1993), nos transplantes que utilizam doadores não aparentados (1995) e tornou-se também uma referência mundial em relação ao tratamento das síndromes de falência medular. Até dezembro de 2013 realizou mais de 500 transplantes em pacientes portadores de Anemia Aplástica Grave; 267 em pacientes com AF e 14 em pacientes com Disceratose Congênita. No Brasil, a experiência adquirida com o tratamento da AF serviu como alicerce para o desenvolvimento do TCTH em outras doenças genéticas, principalmente as imunodeficiências congênitas e os erros inatos do metabolismo. É importante ressaltar que todas estas conquistas e avanços ocorreram dentro de um hospital público universitário situado no contexto de um país em desenvolvimento.

O TCTH é um procedimento de alto custo e grande complexidade e exige a interação com diversos setores dentro e fora do hospital incluindo banco de sangue, laboratórios de histocompatibilidade e pesquisa de agentes infecciosos. O aumento da competência nas diversas áreas relacionadas ao transplante proporciona benefícios diretos e indiretos que contribuem para elevar a qualidade dos serviços prestados a toda a comunidade.

O STMO HC-UFPR realizou o primeiro transplante em um paciente com AF na América Latina em 1983 e conta hoje com uma das maiores experiências do mundo nesta doença. Nos últimos 30 anos, a dose de Ciclofosfamida (CFA) utilizada no regime de condicionamento pré-transplante foi reduzida progressivamente com o objetivo de diminuir a toxicidade e garantir uma pega sustentada do enxerto. Os resultados alcançados neste centro demonstram que um alto índice de pega e uma incidência aceitável de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) podem ser atingidos sem a adição de irradiação no regime preparatório (ZANIS-NETO *et al.*, 2005; BONFIM *et al.*, 2007) Com a redução da toxicidade precoce e aumento da sobrevida, existe a preocupação com o alto risco de desenvolvimento de neoplasias secundárias, principalmente os tumores de cabeça e pescoço.

Fundamentado na grande experiência do serviço nesta doença rara e associado à possibilidade de acompanhamento da maioria dos pacientes no período pós-transplante, foi possível reunir um número expressivo de pacientes para análise das complicações tardias que ocorreram após este procedimento. A avaliação do impacto das complicações observadas após dois anos de transplante e a busca por fatores que possam estar relacionados ao seu desenvolvimento pode estabelecer critérios que permitam a implantação de medidas profiláticas e o diagnóstico precoce.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo principal

Analisar as complicações tardias após dois anos de TCTH em pacientes com Anemia de Fanconi e o seu impacto na sobrevida.

### 1.1.2 Objetivos secundários

- Avaliar o grau de quimerismo encontrado nesta população.
- Identificar o perfil da doença do enxerto contra o hospedeiro crônica e o seu impacto na sobrevida.
- Mostrar a incidência do desenvolvimento do câncer e buscar os fatores de risco para o seu desenvolvimento.
- Relatar outras complicações tardias relacionadas ou não ao TCTH.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

Em 1927, Guido Fanconi descreveu a história de três irmãos portadores de uma anemia grave e fatal. Todos os três tinham entre cinco e sete anos de idade e apresentavam um desenvolvimento intelectual normal, microcefalia, hiperpigmentação da pele, hemorragia cutânea, hipoplasia genital, estrabismo e uma anemia progressiva (Figura 1). Inicialmente ele denominou esta doença de anemia perniciosiforme, porém, em 1929, Uehlinger observou a presença de leucopenia e trombocitopenia e propôs uma mudança do nome para pan-mielocitopatia familiar hipoplástica. Apenas em 1931 o professor Otto Naegeli sugeriu o nome de Anemia de Fanconi para caracterizar esta forma de anemia aplástica constitucional. Na busca para encontrar a causa desta doença, os cientistas da época depararam-se com inúmeras quebras e aberrações cromossômicas e concluíram que os pacientes com AF sofriam de uma síndrome de instabilidade cromossômica (FANCONI, 1967).

A AF acomete 1: 360.000 nascidos vivos, é relatada em todas as raças e etnias e geralmente herdada de maneira autossômica recessiva (CROSSAN; PATEL, 2012). A frequência dos heterozigotos de 1:300 foi estimada há mais de 40 anos atrás sendo baseada em dados superficiais e limitada pela raridade do diagnóstico na época. Estudos epidemiológicos recentes mostram uma frequência de 1:181 nos Estados Unidos. A maior prevalência do mundo ocorre nos ciganos espanhóis com uma frequência nos portadores de 1:70, seguida pelos judeus Ashkenazi (ROSENBERG; TAMARY; ALTER, 2011). No Brasil, não há relatos específicos sobre a incidência desta doença. Devido à grande variabilidade da doença é provável que a verdadeira incidência da AF seja muito subestimada.



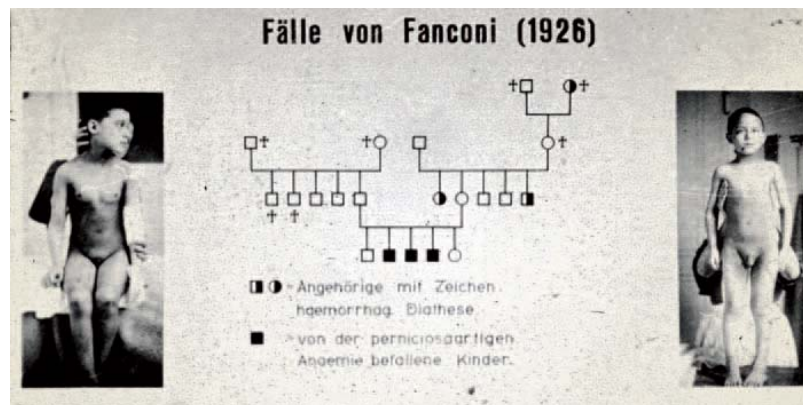


FIGURA 1 - IMAGEM ORIGINAL EXIBIDA EM UMA AULA DE GUIDO FANCONI E QUE EVIDENCIA DOIS DOS TRÊS PRIMEIROS PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI, ASSIM COMO SUA ÁRVORE GENEALÓGICA

FONTE: LOBITZ E VELLEUER (2006)

NOTAS: Os símbolos significam, respectivamente, "membros da família com sinais de diátese hemorrágica" e "crianças com anemia perniciosiforme ou AF".

Imagem gentilmente fornecida por Felix Sennhauser e Markus Schmugge, do Hospital Pediátrico de Zurique, Suíça.

## 2.1 HETEROGENEIDADE GENÉTICA

O conhecimento dos genes que atuam no reparo do DNA aumentou exponencialmente nos últimos anos. Os genes da AF são chamados de FANC e os mais frequentes são os FANCA, FANCC e FANCG que correspondem a aproximadamente 85% de todos os pacientes (KEE; D'ANDREA, 2012). Pelo menos 16 grupos de complementação ou subtipos genéticos foram identificados e no Quadro 1 estão apresentadas as frequências observadas destes grupos, o gene responsável e a função de cada proteína (KUPFER, 2013; GARAYCOECHEA; PATEL, 2014). Todos os genes são herdados de maneira autossômica recessiva, exceto pelo raro grupo de pacientes do FANCB, que está localizado no cromossomo X (SOULIER, 2011).

GRUPO DE COMPLEMENTAÇÃO	GENE RESPONSÁVEL	% DE PTS COM AF	LOCUS	NECESSÁRIA PARA A MONOUBIQUITINAÇÃO DA FANCD2
FA-A	<i>FANCA</i>	57-65	16q24.30.3	Sim
FA-B	<i>FANCB</i>	0,3	Xp22.31	Sim
FA-C	<i>FANCC</i>	9-15	9q22.3	Sim
FA-D1	<i>FANCD1/ BRCA2</i>	3-4	13q12-13	Não
FA-D2	<i>FANCD2</i>	3-6	3p25.3	Sim
FA-E	<i>FANCE</i>	1	6p21-22	Sim
FA-F	<i>FANCF</i>	2	11p15	Sim
FA-G	<i>FANCG/ XRCC9</i>	8-9	9p13	Sim
FA-I	<i>FANCI</i>	Raro	15q25-26	Sim
FA-J	<i>FANCI/BACH1/Brip1</i>	1,6-3	17q22-q24	Não
FA-L	<i>FANCL/PHF9/POG/FAAP43</i>	0,1	2p16.1	Sim
FA-M	<i>FANCM/Hef1 FAAP250</i>	Raro	14q21.3	Sim
FA-N	<i>FANCN/PALB2</i>	Raro	16p12	Não
FA-O	<i>FANCO/RAD51C</i>	Raro	17q23	Não
FA-P	<i>FANCP/SLX4</i>	Raro	16p13.3	Não
FA-Q	<i>FANQQ/XPF4/ERCC4</i>	Raro	16p13.12	Não

QUADRO 1 - GRUPOS DE COMPLEMENTAÇÃO E OS GENES RESPONSÁVEIS PELA ANEMIA DE FANCONI

FONTE: Adaptado de KUPFER, 2013

NOTA: AF: Anemia de Fanconi; pts: Pacientes.

Todas as proteínas da AF participam de uma via comum que se chama Via da AF (Figura 2) e são responsáveis por manter a estabilidade do genoma e promover o reparo do DNA quando ocorre exposição à agentes indutores de ligações cruzadas (MOLDOVAN; D'ANDREA, 2009; GARAYCOECHEA; PATEL, 2014). Oito proteínas (FANCA, FANCB, FANCC, FANCE, FANCF, FANCG, FANCL e FANCM) e os fatores FAAP24 e FAAP100 formam um complexo nuclear central necessário para a monoubiquitinação da proteína FANCD2. Quando um dano ao DNA é induzido por agentes clastogênicos, a monoubiquitinação da FANCD2 ocorre durante a fase S do ciclo celular e este complexo ativado interage com outras proteínas envolvidas no reparo do DNA como FANCD1, BRCA2, BRCA1 e RAD51. O mecanismo preciso pelo qual a via da AF promove o reparo do DNA ainda não é conhecido. Esta via, na qual as proteínas AF participam, é essencial para a replicação do DNA isento de erros (KEE; D'ANDREA, 2012).

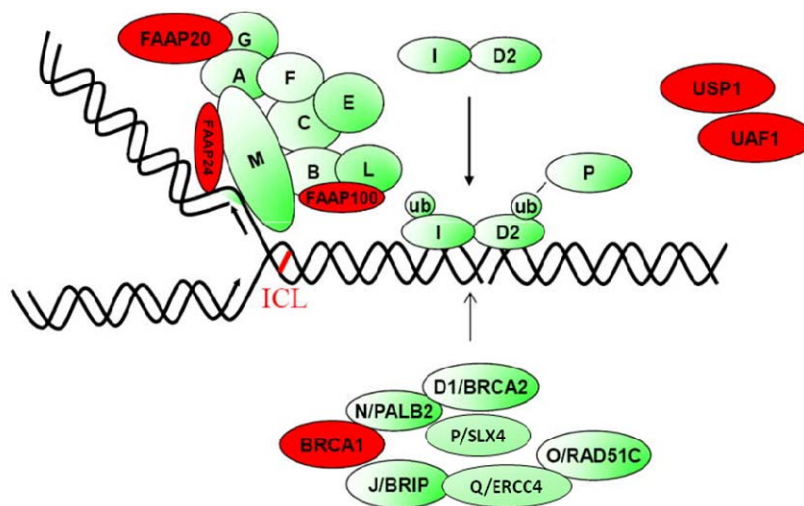


FIGURA 2 - VIA DA ANEMIA DE FANCONI  
 FONTE: Adaptado de D'ANDREA, 2013

## 2.2 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas são muito heterogêneas e caracterizam-se por uma expressividade variável. Alguns autores sugerem que pacientes do grupo FANCA podem ter uma doença mais leve quando comparados aos pacientes do grupo FANCC ou FANCG (KEE; D'ANDREA, 2012). Apenas os pacientes que pertencem aos grupos FANCD1 e FANCDN apresentam uma clara correlação entre o genótipo e o fenótipo e quase invariavelmente desenvolvem leucemias e tumores sólidos até a idade de cinco anos. Várias publicações descrevem fenótipos diferentes entre irmãos com a mesma mutação sugerindo que o fenótipo na AF pode ser influenciado por muitos fatores além da alteração genética (NEVELING *et al.*, 2009).

Estudos recentes mostram que durante a vida intra-útero, o feto com AF pode ser exposto à fontes endógenas de dano ao DNA, dentre elas estão aquelas que promovem um estresse oxidativo como os acetaldeídos (JOENJE, 2011). Como os pacientes com AF não conseguem realizar o reparo do DNA de maneira adequada, ficam sujeitos ao desenvolvimento de malformações congênitas, falência da medula óssea ou predisposição ao câncer. Dependendo do grau deste dano, o embrião é mais ou menos afetado e o desenvolvimento pode inclusive ocorrer normalmente até que o fenótipo da AF seja revelado na idade adulta com a formação de tumores sólidos. Na AF

os achados clínicos podem ser divididos em três grandes áreas: Defeitos no desenvolvimento, comprometimento das células-tronco hematopoéticas e germinativas e predisposição ao câncer (GARAYCOECHEA *et al.*, 2012; GARAYCOECHEA; PATEL, 2014).

### 2.3 DEFEITOS NO DESENVOLVIMENTO

Aproximadamente 70% dos pacientes apresentam algum tipo de defeito do desenvolvimento e as alterações mais encontradas incluem: baixa estatura, manchas café com leite, anormalidades esqueléticas (principalmente dos polegares e alterações do rádio), anormalidades no conduto auditivo, olhos, trato genitourinário, trato gastrointestinal, coração e sistema nervoso (AUERBACH, 2009). As alterações endocrinológicas também são muito frequentes, ocorrendo em 80% dos pacientes e caracterizadas principalmente por uma intolerância a glicose, deficiência de hormônio de crescimento, hipotireoidismo e hipogonadismo (GIRI *et al.*, 2007; AUERBACH, 2009; ROSE *et al.*, 2012). As anormalidades físicas mais comuns e a sua frequência estão apresentadas na Quadro 2. Aproximadamente 10% dos pacientes apresentam apenas baixa estatura e manchas café com leite e em 25% dos casos não são encontradas alterações no exame físico.

ANORMALIDADES	ALTER (2003)	IFAR <sup>(1)</sup>
Número total de pacientes	1206	>700
Pigmentação de pele ou manchas café com leite	55%	64%
Baixa estatura	51%	63%
Anormalidades esqueléticas (polegares, quadril, etc.)	71%	—
Membros superiores	43%	49%
Gônadas anormais (homens)	32%	20%
Gônadas anormais (mulheres)	3%	—
Cabeça	26%	—
Sistema nervoso central	—	8%
Olhos	23%	38%
Rins	21%	34%
Peso ao nascimento $\leq 2500$ g	11%	—
Retardo no desenvolvimento	11%	16%
Ouvidos, audição	9%	11%
Alterações cardiopulmonares	6%	13%
Alterações gastrointestinais	5%	14%
Nenhuma anomalia	25%	30%

QUADRO 2 - ANORMALIDADES FÍSICAS EM PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI

FONTE: Adaptado de BESSLER *et al.* (2009)

NOTA: Os números representam a percentagem dos pacientes com anormalidades.

(1) IFAR- Registro Internacional de Anemia de Fanconi.

## 2.4 DEFEITOS NAS CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOÉTICAS

Nos pacientes com AF, a quantidade de células-tronco hematopoéticas já está diminuída desde o nascimento o que sugere que o dano ao DNA ocorra intra-útero (GARAYCOECHEA; PATEL, 2014). Muitos pacientes apresentam elevação da hemoglobina fetal e da alfa-feto proteína e estas alterações podem ajudar a distinguir uma aplasia congênita das aplasias adquiridas. O comprometimento da célula-tronco hematopoética é caracterizado inicialmente por uma macrocitose seguida de plaquetopenia. A pancitopenia pode ocorrer entre os sete e nove anos de idade e a aplasia grave é a maior causa de óbito na primeira década de vida das crianças. A extensão e a gravidade das malformações estão geralmente associadas a uma falência medular precoce (SOULIER, 2011; KEE; D'ANDREA, 2012; ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013). Raramente a pancitopenia é detectada ao nascimento, porém ao redor dos 40 anos aproximadamente 90% dos pacientes apresentam alterações hematológicas (AUERBACH, 2010).

Dentro do cenário de instabilidade cromossômica e hematopoeese ineficaz, as células dos pacientes com AF sofrem uma grande pressão seletiva que leva a uma proliferação crônica e resulta na aquisição de novos clones e evolução para leucemia (SOULIER, 2011; ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013). As alterações clonais são muito frequentes e atingem 67% dos pacientes aos 30 anos de idade. Anormalidades nos cromossomos 1, 7, 6 e 13 são as mais relatadas, mas o significado clínico destas alterações não é completamente conhecido. Apenas os ganhos na porção distal do cromossomo 3q podem preceder o aparecimento das síndromes mielodisplásicas (SMD) e estão associadas a um pior prognóstico (AYAS *et al.*, 2008; SOULIER, 2011; MEYER; NEITZEL; TÖNNIES, 2012; ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013). A evolução para SMD e leucemia ocorre geralmente a partir dos 14 anos e o risco para o desenvolvimento desta complicação antes dos 20 anos é de 27%, aumentando para 43% aos 30 anos e para 52% aos 40 anos (ALTER, 2003; MEYER NEITZEL; TÖNNIES, 2012). O diagnóstico da SMD é muito difícil nos pacientes com AF e as alterações displásicas na linhagem mieloide são as que estão mais relacionadas com o desenvolvimento da SMD e leucemia (PINTO *et al.*, 2009; CIOC *et al.*, 2010). As alterações citogenéticas comumente encontradas

nos outros pacientes com LMA como a t(15;17), t(8;21) ou inv[16] raramente são encontradas nos pacientes com AF (AUERBACH, 2009).

## 2.5 DEFEITOS NAS CÉLULAS-TRONCO GERMINATIVAS

As células-tronco germinativas também são alteradas e apesar da fertilidade nos homens e mulheres com AF estar comprometida algumas gestações tem sido relatadas mesmo após o transplante. Nos homens, a presença de criptorquidia, hipogonadismo hipergonadotrófico e redução da produção de espermatozoide torna a fertilidade extremamente rara (AUERBACH, 2009; NABHAN *et al.*, 2010).

## 2.6 PREDISPOSIÇÃO AO CÂNCER

Além da alta frequência de SMD e leucemia, os pacientes com AF também apresentam um risco aumentado de desenvolvimento de tumores sólidos, principalmente os carcinomas espinocelulares (CEC) de cabeça e pescoço e região anogenital. O risco destas neoplasias é 500-700 vezes maior do que na população geral e a incidência cumulativa alcança 14% aos 40 anos de idade (AUERBACH, 2009). Estes dados foram confirmados por estudos epidemiológicos norte americanos e europeus (ALTER, 2003; ROSENBERG; GREENE; ALTER, 2003; ROSENBERG; ALTER; EBELL, 2008).

Os pacientes que apresentam manifestações hematológicas leves têm um risco maior de desenvolverem leucemia ou tumores sólidos principalmente porque sobrevivem mais tempo (KUTLER *et al.*, 2003; ROSENBERG; GREENE; ALTER, 2003). O mesmo acontece com aqueles que são curados das complicações hematológicas pelo TCTH. Neste caso, além do maior tempo de sobrevida, o procedimento do transplante também aumenta o risco do desenvolvimento do CEC de cabeça e pescoço especialmente nos pacientes que desenvolvem a doença do enxerto contra o hospedeiro (ROSENBERG *et al.*, 2005; MASSEROT *et al.*, 2008; AUERBACH, 2010).

Na população geral, a maioria dos CEC de cabeça e pescoço ocorre em pacientes acima de 60 anos de idade e estão relacionados ao fumo e à ingestão de álcool (HADDAD; SHIN, 2008). Na AF, devido à instabilidade cromossômica, estes tumores geralmente se desenvolvem numa idade muito precoce e na ausência de fatores de risco conhecidos (ROSENBERG; GREENE; ALTER, 2003). Estes pacientes também apresentam uma alta toxicidade ao tratamento quimioterápico e radioterápico o que limita o tratamento e diminui a probabilidade de cura ( BREMER *et al.*, 2003; ROSENBERG; ALTER; EBELL, 2008; GREEN; KUPFER, 2009; BIRKELAND *et al.*, 2011; ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013).

O papilomavírus (HPV) também está implicado na grande maioria dos cânceres de região anogenital, porém apenas 25% dos tumores de cabeça e pescoço são positivos para este agente. Dentre eles o subtipo de alto risco, HPV 16, é o mais encontrado. Os tumores que apresentam o HPV geralmente tem um prognóstico melhor e se comportam biologicamente de maneira diferente daqueles relacionados ao fumo ou álcool. Apesar do HPV ser um agente frequentemente implicado na patogênese dos CEC na população geral, o seu papel na AF ainda é controverso e vários trabalhos mostram resultados conflitantes (KUTLER *et al.*, 2003; OLIVEIRA *et al.*, 2007; van ZEEBURG *et al.*, 2008; DE ARAUJO *et al.*, 2011; ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013). Os pacientes com AF apresentam uma resposta adequada à vacinação contra o vírus HPV e assim como todos os outros adolescentes, devem ser vacinados independente das controvérsias que existem a respeito deste assunto. Estudos recentes sugerem que a vacinação *per se* pode não ser suficiente para diminuir a incidência destes tumores e o diagnóstico precoce das lesões neoplásicas continua sendo o fator mais importante para o aumento da sobrevida (ALTER *et al.*, 2014).

## 2.7 DIAGNÓSTICO

As células dos pacientes com AF têm alta sensibilidade aos agentes clastogênicos como a Mitomicina C (MMC) e o Diepoxibutano (DEB) e as anormalidades cromossômicas induzidas por estes agentes são características da doença. O teste clássico é realizado em sangue periférico após uma cultura com mitógenos e um agente indutor de ligações cruzadas de DNA (DEB ou Mitomicina) e mostra quebras

cromossômicas, rearranjos, figuras radiais e endoreduplicações. Este teste é altamente sensível e razoavelmente específico, apesar de ser muito laborioso e necessitar de profissionais treinados (AUERBACH, 1993). Estima-se, no entanto, que entre 10-25% dos pacientes possam apresentar duas populações de linfócitos (uma sensível aos efeitos dos agentes clastogênicos e outra resistente). Este fenômeno é chamado de mosaicismo e está associado a uma reversão somática na qual uma linhagem hematopoética pode sofrer uma mutação e restaurar pelo menos parcialmente a função da proteína. Dependendo do grau desta alteração o teste de quebras cromossômicas pode ser negativo e a percentagem de células com aberrações pode ser mais útil do que o número total de aberrações por células (CASTELLA *et al.*, 2011a; KEE; D'ANDREA, 2012). Nestes pacientes a realização dos testes de instabilidade cromossômica em outros tecidos (fibroblastos) pode ser necessária para a confirmação do diagnóstico (GREEN; KUPFER, 2009; CASTELLA *et al.*, 2011a; OOSTRA *et al.*, 2012; KUPFER, 2013).

Shimamura *et al.* (2002) desenvolveram um teste complementar que detecta a forma monoubiquitinada da proteína FANCD2. A eficácia deste método foi demonstrada por Pilonetto *et al.* (2009) em 84 pacientes brasileiros com diagnóstico comprovado de AF. Apesar de uma sensibilidade de 94% e uma especificidade de 100% ter sido encontrada, alguns pacientes portadores de mutações à jusante da via de fanconi ou mosaicismo podem não ser identificados por este método já que apresentam uma monoubiquitinação normal da FANCD2 (BECKER *et al.*, 2010; PILONETTO *et al.*, 2009).

O único teste que realmente confirma o diagnóstico da AF é a identificação da mutação genética. Alguns grupos apresentam uma alta frequência de mutações específicas como os ciganos espanhóis e os brasileiros (CASTELLA *et al.*, 2011b). No Brasil a mutação do gene FANCA 3788/3790~~del~~ é encontrada em 30% dos pacientes (MAGDALENA *et al.*, 2005).

O diagnóstico precoce é importante para que o paciente e sua família possam considerar as possibilidades terapêuticas relacionadas à falência medular, discutir sobre intervenções cirúrgicas antes do desenvolvimento da pancitopenia e receber um aconselhamento genético adequado.



## 2.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

O diagnóstico diferencial deve incluir todas as outras síndromes de falência medular constitucionais, dentre elas: Disceratose Congênita, Síndrome de Shwachmann-Diamond, Síndrome de Blackfan-Diamond e trombocitopenia com ausência do rádio. Além disto, deve-se distinguir estes pacientes daqueles que tem uma instabilidade cromossômica elevada como a Síndrome de Bloom, Síndrome de Nijmegen e Ataxia Telangiectasia (SHIMAMURA; ALTER, 2010).

## 2.9 TRATAMENTO

A alta sensibilidade aos agentes indutores de ligações cruzadas tornou o tratamento dos pacientes com AF muito tóxico e por mais de 30 anos os resultados dos transplantes na AF não foram animadores. Na última década este procedimento tornou-se mais seguro e ocorreu um espetacular aumento da sobrevida. Muitos pacientes com AF chegam à idade adulta e estão em risco de desenvolverem complicações relacionadas à doença ou ao tratamento (GREEN; KUPFER, 2009).

O tratamento das complicações hematológicas da AF depende da gravidade da pancitopenia e da existência ou não de um doador familiar compatível. Nem todos necessitam de um transplante e a indicação deste procedimento só deve ser feita naqueles pacientes que evoluem com pancitopenia progressiva ou desenvolvem SMD ou leucemia. O TCTH deve ser realizado, de preferência antes do início da necessidade transfusional. Atualmente, os resultados dos transplantes são excelentes principalmente quando este procedimento é realizado em pacientes jovens, com doadores familiares compatíveis e que estejam em fase de aplasia. Neste grupo, aproximadamente 90% dos pacientes ficam curados do ponto de vista hematológico e têm uma longa sobrevida (BONFIM *et al.*, 2007; FARZIN *et al.*, 2007; DUFOUR; SVAHN, 2008; MacMILLAN; WAGNER, 2010).

Quando não há um doador compatível na família, o tratamento de suporte é realizado com andrógenos, fatores de crescimento hematopoético(G-CSF) e transfusões sanguíneas. Os andrógenos têm sido utilizados no tratamento das citopenias da AF há vários anos e tanto as suas vantagens como os seus efeitos colaterais são amplamente conhecidos. Observa-se uma melhora transitória dos níveis de hemoglobina e plaquetas em 50-60% dos pacientes, porém vários pacientes tornam-se refratários com o tempo. Os efeitos colaterais mais relatados são a virilização, acne, hiperatividade, crescimento acelerado seguido de um fechamento prematuro das cartilagens de crescimento, alterações das enzimas hepáticas, adenomas hepáticos e risco aumentado de hepatocarcinoma. O uso de fatores de crescimento hematopoético como o G-CSF também pode aumentar de maneira transitória a contagem de neutrófilos, porém o uso é controverso nos pacientes que apresentam anormalidades citogenéticas clonais pela possibilidade de induzir à transformação leucêmica (SHIMAMURA; ALTER, 2010; KEE; D'ANDREA, 2012; SCHECKENBACH *et al.*, 2012).

O TCTH é o único tratamento com perspectiva de cura das complicações hematológicas nos pacientes com AF. Historicamente, os desafios foram muitos e os regimes de condicionamento eram semelhantes àqueles utilizados em pacientes com AAS. Devido à sensibilidade dos pacientes com AF aos agentes clastogênicos, a mortalidade precoce era alta e estava relacionada à DECH, cistite hemorrágica grave, mucosite, insuficiência cardíaca e doença veno-oclusiva hepática (GLUCKMAN *et al.*, 1995; MYERS; DAVIES, 2009).

O desenvolvimento de regimes de intensidade reduzida que poderiam ser bem tolerados neste grupo de pacientes só ocorreu após o trabalho pioneiro da Dra. Eliane Gluckman em Paris. Eles demonstraram que uma longa sobrevida poderia ser alcançada através da redução da dose de ciclofosfamida e adição de uma dose baixa de irradiação corporal total ou irradiação toraco-abdominal (GLUCKMAN; WAGNER, 2008; MYERS; DAVIES, 2009). Esse regime preparatório passou a ser utilizado por vários centros de transplante no mundo nos pacientes que tinham doadores familiares totalmente compatíveis. Os resultados recentes deste protocolo mostram uma sobrevida de 89% aos 10 anos e uma incidência de DECH aguda de 23% e de DECH crônica de 12% (MYERS; DAVIES, 2009; PEFFAULT DE LATOUR *et al.*, 2013). Esta mesma sobrevida pode ser atingida usando apenas ciclofosfamida em dose reduzida sem a adição de irradiação ou globulina anti-timocítica (ZANIS-NETO *et al.*, 2005; BONFIM *et al.*, 2007). Um estudo do *Center of International Blood*

*and Marrow Transplant Research* (CIBMTR) mostrou que o uso de irradiação nos pacientes com AF que tem irmãos compatíveis não esteve relacionado com um aumento na sobrevida. Devido ao elevado risco de câncer nesta doença, este estudo sugere que os regimes de condicionamento que contenham irradiação sejam evitados sempre que possível (PASQUINI *et al.*, 2009).

Os pacientes com AF que não têm doadores familiares compatíveis e que necessitam de um transplante devem ser encaminhados para a busca de doadores em bancos nacionais ou internacionais. Os resultados dos TCTH com doadores alternativos melhoraram muito na última década provavelmente devido ao encaminhamento precoce do paciente, uso de fludarabina nos regimes de condicionamento e desenvolvimento da tipificação do HLA permitindo uma melhor seleção do doador (MacMILLAN; WAGNER, 2010). Mesmo assim, a incidência cumulativa de rejeição e DECH ainda são maiores do que aquelas observadas em pacientes com doadores irmãos compatíveis (DE MEDEIROS *et al.*, 2006; DUFOUR; SVAHN, 2008; MYERS; DAVIES, 2009; PEFFAULT DE LATOUR *et al.*, 2013). Nos transplantes não aparentados, os maiores determinantes de uma melhor sobrevida foram o encaminhamento de pacientes jovens em fase de aplasia e pouco transfundidos e a associação de fludarabina aos regimes de condicionamento (GLUCKMAN; WAGNER, 2008; GREEN; KUPFER, 2009).

Os pacientes que não têm doadores compatíveis aparentados ou não aparentados podem ser submetidos à protocolos de transplante experimentais em alguns centros de excelência. Os resultados destes protocolos ainda são preliminares e necessitam tempo e número de pacientes para que sua eficácia seja comprovada (THAKAR *et al.*, 2012). Outros tratamentos como a terapia gênica estão em desenvolvimento para grupos específicos de pacientes com AF com resultados promissores (BECKER *et al.*, 2010; TOLAR *et al.*, 2011).

## 2.10 COMPLICAÇÕES TARDIAS PÓS-TCTH

O TCTH tem sido indicado para o tratamento de um número cada vez maior de doenças malignas e não malignas e atualmente mais de 60 mil transplantes são realizados anualmente em todo o mundo. A projeção para 2030 é que o número de

sobreviventes aumente em cinco vezes e atinja meio milhão de pacientes apenas nos Estados Unidos (HASHMI *et al.*, 2014). De maneira geral as complicações e mortes acontecem nos dois primeiros anos pós-transplante e estão relacionadas à DECH aguda e crônica, recidiva da doença, infecções ou outras toxicidades agudas. A morte após dois anos de transplante é incomum (WINGARD *et al.*, 2011).

O CIBMTR, através do seu registro de dados e liderança, juntou representantes das maiores sociedades de transplante do mundo e publicou um conjunto de diretrizes que orientam médicos e pacientes em relação a prevenção e diagnóstico precoce destas complicações (MAJHAIL *et al.*, 2012). Outras publicações recentes contêm informações detalhadas sobre os efeitos tardios que variam de acordo com a idade do paciente na época do TCTH, a doença de base, o tipo de transplante e as intercorrências ocorridas após o procedimento (BHATIA *et al.*, 2007; BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010; WONG *et al.*, 2010; BHATIA, 2011; NIEDER *et al.*, 2011; TICHELLI *et al.*, 2011; MAJHAIL *et al.*, 2012).

Wingard *et al.* (2011) avaliaram mais de 10 mil pacientes buscando determinar os fatores que levam a uma maior sobrevida e comparar esta sobrevida àquela esperada pela população geral. Com um seguimento mediano de nove anos, a probabilidade dos pacientes estarem vivos aos 10 anos era de 85% e as maiores causas de morte incluíram uma idade avançada e a presença de DECH. Neste estudo, a expectativa de vida pareada por sexo, etnia, nacionalidade e idade permaneceram inferiores àquela observada na população geral (WINGARD *et al.*, 2011). Outra importante revisão concluiu que aqueles que sobrevivem pelo menos cinco anos pós-transplante têm entre quatro a nove vezes mais risco de morrerem nos 30 anos seguintes. Neste grupo, dois terços dos sobreviventes desenvolveram pelo menos uma doença crônica enquanto que um quinto apresentou alguma complicação que colocou em risco a sua vida. A incidência cumulativa do desenvolvimento de pelo menos uma doença crônica atingiu 60% aos 10 anos pós-transplante (BHATIA, 2011).

Apesar do mérito das inúmeras publicações relacionadas ao seguimento de pacientes adultos, as orientações para o acompanhamento de pacientes transplantados quando crianças diferem em pontos importantes, principalmente no que se refere à maior incidência de transplantes realizados para doenças não malignas neste último grupo. Neste aspecto, a revisão realizada por Pulsipher *et al.* (2012) explorou e comparou as diferentes recomendações feitas por diversos grupos e elaborou um

consenso de diretrizes para que os pacientes pediátricos pudessem ser adequadamente acompanhados.

Nas crianças em geral, independente do diagnóstico de AF, as complicações tardias pós-TCTH podem ser divididas em complicações endocrinológicas, cardiovasculares, gastrointestinais, pulmonares, neurocognitivas, oculares e renais. Muitas destas complicações estão relacionadas à reconstituição imunológica e à presença ou não da doença do enxerto contra o hospedeiro (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010; PARSONS *et al.*, 2012).

### 2.10.1 Complicações endocrinológicas

As complicações endocrinológicas estão dentre as mais encontradas no período pós-transplante e incluem alterações da tireoide, síndrome metabólica, déficit de crescimento, alterações ósseas e anormalidades no desenvolvimento puberal e fertilidade (CAHN *et al.*, 2005; COHEN *et al.*, 2008; DAHLLÖF; HINGORANI; SANDERS, 2008; SANDERS *et al.*, 2009; BHATIA, 2011; MAJHAIL *et al.*, 2012;).

Nos pacientes com AF o comprometimento do sistema endocrinológico é ainda maior. As alterações endocrinológicas podem se desenvolver intra-útero, aparecer com o tempo ou serem decorrentes do tratamento realizado como excesso de transfusões sanguíneas, uso de andrógenos ou TCTH (GIRI *et al.*, 2007; ROSE *et al.*, 2012).

As alterações de crescimento foram bem estudadas na AF e decorrem de deficiências hormonais que incluem hipopituitarismo, deficiência de hormônio de crescimento (GH) e deficiência de hormônio tireoidiano. O crescimento também foi afetado pelas anormalidades esqueléticas que são comuns nestes pacientes. Na maioria dos pacientes com AF, a estatura final geralmente encontra-se dois desvios padrões abaixo da estatura esperada para a população geral. No período pré-transplante muitos pacientes fazem uso de andrógenos o que acelera o crescimento e fechamento das epífises ósseas diminuindo a estatura final. Apesar da baixa estatura ser reconhecida como uma das manifestações clínicas mais comuns na AF é importante ressaltar que aproximadamente 40% dos pacientes podem ter uma estatura dentro dos limites da normalidade (GIRI *et al.*, 2007; AUERBACH, 2009; ROSE *et al.*, 2012). Após o transplante, o crescimento pode ser ainda mais afetado,

especialmente na presença de DECH e do seu tratamento. O uso de GH Recombinante pré-transplante é motivo de intenso debate pelo risco teórico do desenvolvimento de leucemias em pacientes com predisposição genética. O consenso atual sugere que a reposição do GH deve ser feita quando existir comprovada deficiência deste hormônio e ausência de alterações clonais de mau prognóstico na citogenética de medula óssea (FORLENZA *et al.*, 2014).

A função tireoidiana também está alterada em vários pacientes pós-transplante, independente do diagnóstico da AF. O grupo de Seattle avaliou 791 pacientes submetidos ao transplante antes dos 18 anos e que tinham diversas doenças. A disfunção tireoidiana continuou por 28 anos pós-TCTH e o hipotireoidismo foi o achado mais frequente, sendo detectado principalmente nos pacientes abaixo de 10 anos de idade. Neste grupo, 13 casos de carcinoma papilar e cinco adenomas também foram identificados (SANDERS *et al.*, 2009). A recomendação atual é que os exames de função tireoidiana (T4 Livre e TSH) e a ecografia de tireoide sejam solicitados anualmente e que todos os pacientes com alterações sejam referidos ao endocrinologista. Muitos pacientes apresentam elevação do TSH com T4 normal caracterizando um hipotireoidismo subclínico e o tratamento com reposição hormonal deve ser individualizado (SANDERS *et al.*, 2009; PULSIPHER *et al.*, 2012). Nos pacientes com AF a alteração da função da tireoide ocorre com maior frequência e aproximadamente 60% das crianças e o hipotireoidismo também é a alteração mais encontrada. O uso de hormônio tireoidiano é recomendado para todos os pacientes com hipotireoidismo franco e também pode ser considerado nos pacientes com AF que apresentam hipotireoidismo subclínico e baixa estatura (GIRI *et al.*, 2007; ROSE *et al.*, 2012).

O desenvolvimento puberal normal é o resultado da interação de vários fatores como a produção do hormônio gonadotrofina liberados pelo hipotálamo, a produção de LH e FSH pela glândula pituitária, a produção dos hormônios sexuais pelas gônadas e o seu efeito no órgão alvo (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010). A disfunção gonadal é frequentemente relatada após o transplante principalmente nos pacientes que recebem quimioterapia e radioterapia mieloablativa (SUN *et al.*, 2011). As células de Sertoli (epitélio germinativo testicular) são responsáveis pela produção dos espermatozoides e são mais sensíveis à irradiação e quimioterapia do que as células de Leydig que estão envolvidas na secreção da testosterona. Desta maneira, alguns pacientes podem apresentar níveis elevados de FSH e LH caracterizando um

hipogonadismo hipergonadotrófico enquanto mantém níveis normais de testosterona. Pacientes transplantados abaixo dos 25 anos tem uma chance maior de recuperar pelo menos parcialmente a fertilidade após transplante (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010; SUN *et al.*, 2011; PULSIPHER *et al.*, 2012). As malformações congênitas genito-urinárias encontradas nos pacientes com AF aumentam a taxa de infertilidade sendo rara a possibilidade de encontrar homens férteis pré ou pós-transplante (AUERBACH, 2009). Comparados aos testículos, os ovários são muito mais vulneráveis à irradiação e quimioterapia. No contexto geral, 50% das meninas transplantadas no período pré-púbere que receberam irradiação corporal total, conseguem entrar normalmente na puberdade e a menarca acontece na idade habitual. As meninas transplantadas após os 12 anos de idade, que recebem condicionamentos mieloablativos, geralmente desenvolvem falência ovariana precoce. A identificação da falência ovariana é importante porque enfatiza a necessidade de reposição hormonal com o intuito de diminuir as complicações relacionadas à osteoporose e doenças cardiovasculares (BHATIA, 2011; SUN *et al.*, 2011).

Aproximadamente 50% das mulheres com AF são inférteis e algumas apresentam também malformações do aparelho ginecológico. Falência ovariana precoce e menopausa são frequentes e encurtam o tempo de fertilidade nestas pacientes (ROSE *et al.*, 2012). Apesar de diminuída, as mulheres com AF podem ter gestações normais tanto pré como pós-TCTH. Nabhan *et al.* (2010) identificaram 110 mulheres em idade fértil que foram transplantadas em 15 centros de transplante. Deste grupo, 10 mulheres ficaram grávidas, quatro delas tiveram duas gestações. Durante o período pós-TCTH, cinco apresentaram falência ovariana sendo que duas apresentaram reversão espontânea da fertilidade e três necessitaram reposição hormonal. Ao todo, 14 crianças saudáveis nasceram sem outras intercorrências (NABHAN *et al.*, 2010). Como a janela de oportunidade para a fecundação é pequena, a medida dos níveis dos hormônios mullerianos para a análise da reserva ovariana pode ser feita precocemente com o objetivo de orientar o planejamento familiar (SKLAVOS *et al.*, 2014).

### 2.10.2 Complicações cardiovasculares

As complicações cardiovasculares, que ocorrem após o TCTH, têm sido cada vez mais estudadas (UDERZO *et al.*, 2009; BAKER; ARMENIAN; BHATIA, 2010; MAJHAIL *et al.*, 2012). Não existem trabalhos específicos em relação aos pacientes com AF, porém tanto a quimioterapia em altas doses quanto a radioterapia são deletérias para o coração. O acompanhamento dos pacientes submetidos a este procedimento é muito importante e tem como objetivo diminuir os riscos de síndrome metabólica (obesidade central, resistência insulínica, intolerância a glicose, dislipidemia e hipertensão) e diabetes tipo 2 que podem ser encontrados em quase 40% dos pacientes que sobrevivem por longo tempo. Mesmo em pacientes jovens e não obesos, existe um risco maior de desenvolver complicações cardiovasculares (MAJHAIL *et al.*, 2009a; MAJHAIL *et al.*, 2009b; BAKER; ARMENIAN; BHATIA, 2010).

### 2.10.3 Complicações gastrointestinais

A toxicidade gastrointestinal precoce é muito comum após todos os tipos de transplante principalmente nos pacientes com AF onde tanto a mucosite quanto a diarreia são extremamente frequentes. As complicações tardias são geralmente relacionadas a DECH crônica de trato gastrointestinal e fígado ou ao acúmulo de ferro (MAJHAIL *et al.*, 2008; PULSIPHER *et al.*, 2012; MEYER *et al.*, 2013). Antes do *screening* universal do sangue, a elevação de transaminases após o TCTH geralmente estava relacionada a presença do vírus da hepatite B e C. Alguns estudos mostram uma elevação persistente de transaminases em 10 a 57% dos pacientes entre um a 10 anos após o TCTH (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010).



#### 2.10.4 Doença do enxerto contra o hospedeiro

A DECH crônica é a complicação pós-TCTH de maior morbidade e a sua presença resulta em uma significativa diminuição da qualidade de vida (MARTIN *et al.*, 2010; WINGARD *et al.*, 2011). O diagnóstico geralmente é clínico e recentemente vários biomarcadores vêm sendo estudados com o objetivo de facilitar o diagnóstico ou auxiliar na análise da resposta ao tratamento (SOCIÉ; RITZ, 2014). A descrição original e o estadiamento dos pacientes com DECH crônica foi baseada em um número muito pequeno de casos na era pré-ciclosporina (GREINIX *et al.*, 2011). Em 2005, o Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos (*National Institute of Health*) realizou uma conferência com vários especialistas de todo o mundo com o objetivo de entender o grande espectro de manifestações clínicas desta doença, além de estabelecer e padronizar novos critérios de diagnóstico e classificação que seriam usados em ensaios clínicos (VIGORITO *et al.*, 2009; SOCIÉ; RITZ, 2014). A definição deste novo critério vem sendo validada por inúmeros centros de transplante nacionais e internacionais.

Do ponto de vista clínico, as alterações em pele, articulações e fáscia podem levar a grandes limitações de movimentação, enquanto que o envolvimento pulmonar pode ser considerado um dos efeitos mais catastróficos da DECH. As crianças que tem DECH crônica e que precisam usar corticoide também têm alterações no crescimento e maior risco de desenvolver necrose avascular da cabeça do fêmur, intolerância à glicose e hipertensão arterial (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010; UBERTI *et al.*, 2011). Sanders *et al.* (2011) avaliaram as complicações tardias após o transplante em 152 pacientes dos quais 137 tinham anemia aplástica grave e 15 tinham AF. Estes pacientes foram seguidos por quase quatro décadas com um seguimento mediano de 21 anos. Na análise multivariada os únicos fatores que tiveram impacto negativo na sobrevida foram a DECH crônica e o diagnóstico de AF.

A presença de DECH nos pacientes com AF é mais frequente e tem um papel fundamental no desenvolvimento de graves complicações, principalmente o risco aumentado do desenvolvimento de carcinoma espinocelular (GUARDIOLA *et al.*, 2004; ROSENBERG *et al.*, 2005; KUPFER, 2013).

### 2.10.5 Câncer

Nos pacientes com AF, os tumores sólidos mais frequentes são o CEC de cavidade oral, orofaringe e esôfago, seguido por tumores ginecológicos. A alta frequência deste tipo de tumor ocorre principalmente porque os regimes de condicionamento levam a uma maior instabilidade genômica e seleção clonal em células epiteliais (ROMICK-ROSENDALE *et al.*, 2013; WONG *et al.*, 2013). Rosenberg *et al.* (2005) avaliaram o risco de desenvolvimento de CEC em 117 pacientes submetidos a um TCTH no Hospital Saint Louis (Paris, França) e comparou com os dados do registro Norte Americano que incluíam 145 pacientes não transplantados. Entre os transplantados, 85% receberam esquemas de condicionamento com radioterapia linfonodal total ou corporal total. O risco do desenvolvimento do CEC foi significativamente maior nos pacientes transplantados e estes tumores ocorreram numa mediana de idade mais jovem (18 anos) quando comparados àqueles não transplantados (33 anos). A presença de DECH aguda e crônica também foram fatores de risco para o aparecimento destes tumores (ROSENBERG *et al.*, 2005).

No estudo de Kutler *et al.* (2003), os dados de 754 pacientes com AF provenientes do Registro Internacional de AF (IFAR) foram analisados com o objetivo de avaliar a incidência cumulativa de CEC de cabeça e pescoço. Dezenove pacientes (seis transplantados) foram diagnosticados com uma mediana de idade de 31 anos. Apesar de 17 dos 19 pacientes terem tolerado muito bem a cirurgia, a toxicidade foi muito elevada naqueles que precisaram receber quimioterapia e/ou radioterapia. Os tumores foram geralmente diagnosticados em fase mais avançada e em 70% dos casos envolviam a região da língua, o que contrasta com o acometimento desta região na população geral, que raramente ultrapassa 20%. A recaída também foi frequente e 53% dos pacientes evoluíram com progressão da doença numa mediana de 16 meses do diagnóstico. Os tumores eram agressivos, multifocais e tiveram uma tendência a progressão mesmo nos casos detectados precocemente.

Resultados semelhantes foram encontrados no estudo de Masserot *et al.* (2008). Neste trabalho, o grupo do Hospital Saint Louis, em Paris, analisou a evolução de 13 pacientes que tiveram o diagnóstico de CEC de cabeça e pescoço entre 5,5 e 21,6 anos pós-transplante (Mediana: 10 anos). Estes pacientes também

foram diagnosticados com uma mediana de idade de 31 anos e todos receberam radioterapia e tiveram DECH.

Novos agentes como o Cetuximab (anticorpo monoclonal que inibe o receptor epidérmico do fator de crescimento – EGFR) podem ser menos tóxicos e talvez mais eficazes no combate ao câncer destes pacientes (WONG *et al.*, 2013).

#### 2.10.6 Outras complicações tardias

As três complicações oculares mais comuns são o desenvolvimento de catarata, a ceratoconjuntivite seca relacionada à DECH e a retinopatia microvascular isquêmica. A catarata pode ocorrer após o uso de irradiação corporal total ou corticoide e a sua incidência varia de 28 a 78% de acordo com vários estudos. Todas estas alterações podem levar a uma diminuição importante da acuidade visual aumentando a dificuldade de aprendizado e piorando a qualidade de vida (BHATIA *et al.*, 2007; BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010; BHATIA, 2011).

As alterações neurocognitivas foram extensamente estudadas em pacientes pediátricos pós-quimioterapia e transplante e geralmente estão relacionadas ao *status* sócio econômico e ao teste de coeficiente de inteligência (QI) pré-TCTH (KUPST *et al.*, 2002; PHIPPS *et al.*, 2008; BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010).

As complicações renais foram frequentemente relatadas após o uso de inibidores de calcinerina (ciclosporina e tacrolimus) e a incidência cumulativa de insuficiência renal crônica após cinco anos de transplante variou de 4,4 a 44% dependendo do tipo de transplante (NIEDER *et al.*, 2011). O uso de radioterapia nos regimes de condicionamento foi inicialmente considerado um fator de alto risco para o desenvolvimento de insuficiência renal crônica, porém estudos mais recentes descartaram esta possibilidade. A medida da pressão arterial e a avaliação da função renal são obrigatórias nas consultas de seguimento pós-TCTH, já que as crianças que foram submetidas ao TCTH têm uma probabilidade duas a três vezes maior de desenvolverem hipertensão arterial quando comparadas à população geral (HOFFMEISTER *et al.*, 2010; PULSIPHER *et al.*, 2012). As malformações genito-urinárias são muito frequentes nos pacientes com AF e podem contribuir para a piora da função renal após o TCTH (SOCIÉ *et al.*, 1998).

As complicações pulmonares são uma grande causa de mortalidade precoce pós-TCTH. As alterações obstrutivas relacionadas à DECH crônica são mais frequentes no primeiro ano pós-transplante enquanto que as restritivas ocorrem após este período. A prova de função pulmonar pode não retornar ao normal até cinco ou 10 anos pós-TCTH e o distúrbio restritivo pode persistir durante todo este tempo (BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010).

Não existem trabalhos recentes que discutam especificamente sobre as complicações tardias pós-TCTH em pacientes com AF. Em 1998, Socie *et al.* (1998) analisaram o seguimento de 50 pacientes com AF transplantados entre 1981 e 1996 no Hospital *Saint Louis*, em Paris. A maioria foi submetida a um transplante aparentado compatível e recebeu irradiação no regime de condicionamento. Trinta e nove pacientes viveram mais do que dois anos e as causas de morte neste grupo (sete) foram relacionadas à infecção, AIDS, cirrose hepática e câncer. As complicações endocrinológicas também foram frequentes e os pacientes que desenvolveram DECH crônica e que receberam múltiplas transfusões antes do transplante tiveram um pior prognóstico. Apesar do desenvolvimento de algumas complicações, a maioria dos pacientes tinha uma vida normal. Mais recentemente o grupo de *Cincinnati* (Estados Unidos) também mostrou que 29 dos 35 pacientes submetidos a um TCTH aparentado compatível estavam vivos com um seguimento médio de 10 anos sem evolução para SMD ou leucemia. Apenas dois pacientes apresentaram um CEC de cabeça e pescoço, porém nenhum deles tinha DECH (FARZIN *et al.*, 2007).

Os maiores objetivos do seguimento de pacientes após o TCTH estão relacionados ao desenvolvimento de estratégias que permitam a prevenção de efeitos tardios já conhecidos e ao estabelecimento de ações que diminuam a exposição dos pacientes a vários fatores de risco. Nos pacientes com AF, além das complicações relacionadas à doença de base, somam-se todas as outras relativas aos regimes de condicionamento e toxicidades do TCTH. Baseado na extensa literatura relacionada a este tema, todo paciente pós-transplante e em especial o paciente com AF deve ser estimulado a levar uma vida saudável, que inclui uma dieta regular, exercícios físicos, cuidado com a exposição solar excessiva e avaliação regular da cavidade oral por pessoa treinada (MAJHAIL *et al.*, 2012).

### **3 CASUÍSTICA E MÉTODOS**

#### **3.1 TIPO DE ESTUDO**

Estudo observacional, retrospectivo e prospectivo, que incluiu todos os pacientes com diagnóstico confirmado de AF, submetidos a um TCTH no STMO HC-UFPR no período de novembro de 1983 a dezembro de 2011 e que estivessem vivos após dois anos de transplante. Este estudo foi dividido em duas etapas:

- Um estudo descritivo e retrospectivo de todas as complicações encontradas nos pacientes que sobreviveram mais do que dois anos pós TCTH e que vieram a falecer posteriormente por qualquer causa ou que foram perdidos de seguimento após este período.
- Um estudo prospectivo, com a avaliação dos pacientes que sobreviveram mais do que dois anos pós TCTH e que estivessem vivos na data da coleta de dados.

#### **3.2 LOCAL E PERÍODO DO ESTUDO**

Este estudo foi realizado no STMO do HC-UFPR no período de 10 de novembro de 2009 a 31 de dezembro de 2013.

#### **3.3 CASUÍSTICA**

No período de 4.11.1983 até 31.12.2011, duzentos e quarenta e dois pacientes com diagnóstico confirmado de AF foram submetidos a um primeiro TCTH no STMO do HC-UFPR, sendo que aproximadamente 60% destes foram transplantados nos últimos dez anos. A distribuição destes pacientes de acordo com o ano de transplante encontra-se no Gráfico 1.

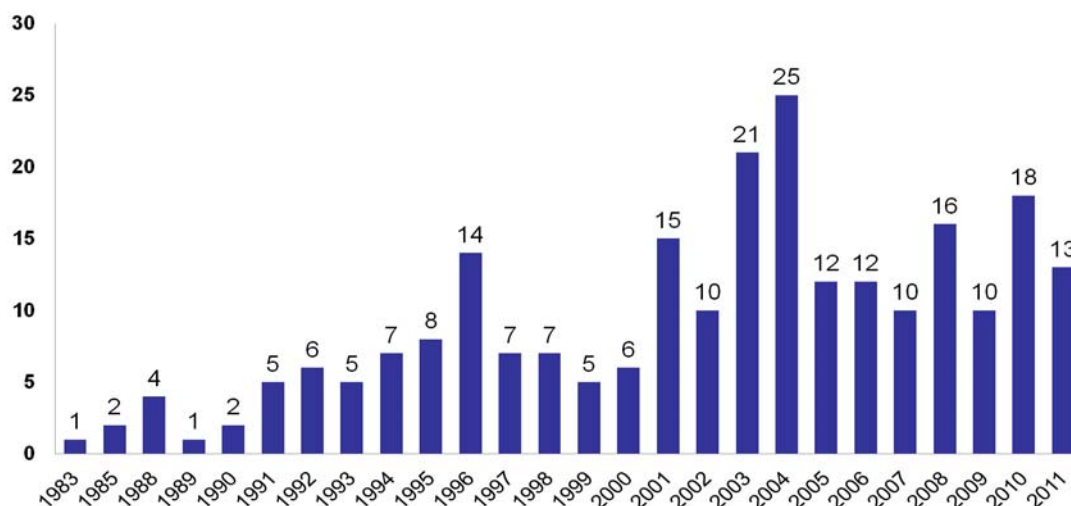


GRÁFICO 1 - NÚMERO DE PACIENTES TRANSPLANTADOS COM AF NO STMO DO HC- UFPR ENTRE 1983 E 2011

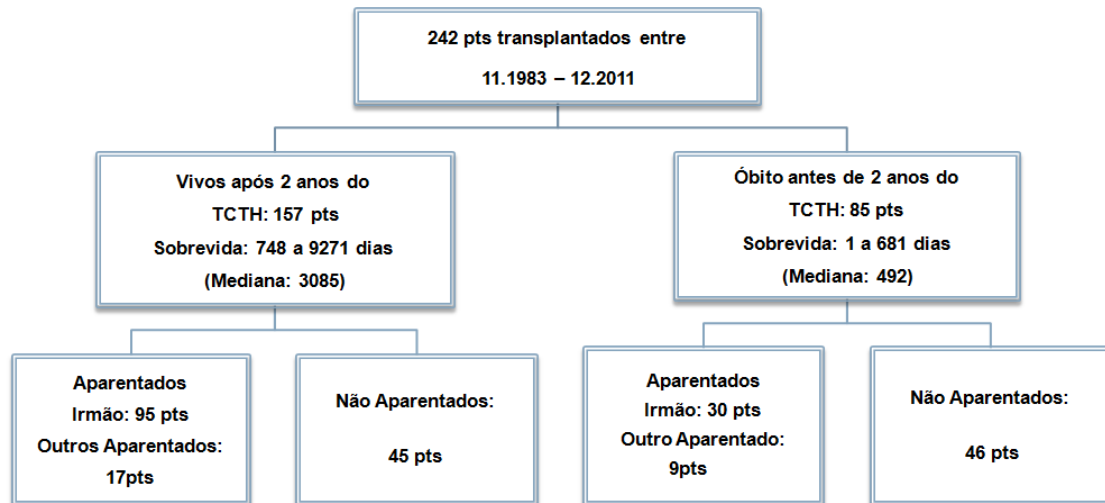
FONTE: O autor (2014)

Dos 242 pacientes transplantados neste período, oitenta e cinco morreram antes de completar dois anos de transplante e foram excluídos desta análise. As características dos pacientes que morreram assim como os dados referentes ao transplante e as causas de óbito estão relatadas no Apêndice 1.

A população deste estudo foi constituída pelos 157 pacientes que sobreviveram mais de dois anos pós-transplante e a seleção da amostra final está apresentada no Fluxograma 1.

Todos os pacientes com AF foram encaminhados ao STMO do HC-UFPR por apresentarem alterações hematológicas, malformações congênitas características da doença ou história familiar. Eles foram avaliados no período pré-transplante no Ambulatório de Anemia da Fanconi e o diagnóstico foi confirmado neste hospital por meio da realização dos testes de instabilidade cromossômica. A avaliação dos pacientes foi realizada pela autora durante a consulta de retorno anual no STMO do HC-UFPR. Os pacientes que não eram assíduos às consultas foram contatados pela autora ou por um dos assistentes sociais do STMO do HC-UFPR e convidados a comparecer ao serviço e participar do estudo. Um total de cinco pacientes não foram localizados durante o período do estudo mesmo após várias tentativas de contato (telefone, email, mídia social, rádio). Destes, quatro pacientes foram avaliados neste serviço, pela autora, em 2008 e a análise das complicações encontradas após o TCTH foi descrita até a data deste último contato. Apenas um paciente foi perdido de seguimento após cinco anos de transplante e não retornou

ao serviço após 1998. A análise de todas as complicações encontradas neste paciente também foi realizada até a data do seu último contato.



FLUXOGRAMA 1 - TOTAL DE PACIENTES TRANSPLANTADOS NO PERÍODO DE 1983 A 2011 E SUA DISTRIBUIÇÃO DE ACORDO COM A SOBREVIDA (< OU ≥ 2 ANOS) E O TIPO DE TRANSPLANTE REALIZADO

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de Células-tronco Hematopoéticas; pts: pacientes.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HC/UFPR (Anexo 1). Os pacientes foram incluídos após a leitura e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Aqueles que foram a óbito ou abandonaram o seguimento foram dispensados do consentimento.

### 3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Todos os pacientes com diagnóstico confirmado de AF, submetidos a um TCTH no Hospital de Clínicas da UFPR no período de novembro de 1983 a dezembro de 2011 e que estivessem vivos após dois ou mais anos deste procedimento.

### 3.5 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes cujos prontuários não fossem localizados.
- Pacientes que se recusassem a participar do estudo.

### 3.6 CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA

Os 157 pacientes que constituem a população deste estudo foram provenientes de todas as regiões geográficas do país e a sua distribuição encontra-se no Gráfico 2.

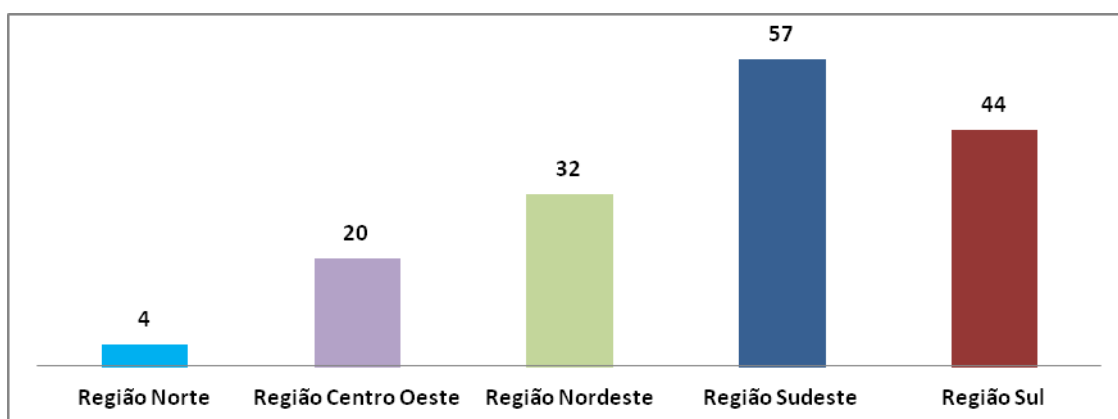


GRÁFICO 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS 157 PACIENTES POR REGIÃO DO PAÍS  
FONTE: O autor (2014)

A idade na primeira manifestação hematológica variou de um a 32 anos com uma mediana de seis anos. Dos 131 pacientes que receberam transfusões prévias, a idade na primeira transfusão também variou de um a 32 anos com uma mediana de sete anos. O número de transfusões prévias ao TCTH variou de 0 a 151 unidades com uma mediana de seis unidades, sendo que 113 pacientes (72%) receberam menos do que 20 transfusões antes do transplante. Outros dados clínicos e biológicos dos pacientes assim como o tipo de tratamento realizado antes do transplante estão descritos na Tabela 1.



TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS 157 PACIENTES QUE SOBREVIVERAM &gt; 2 ANOS PÓS-TCTH

VARIÁVEIS	NÚMERO DE PACIENTES	PERCENTAGEM
Sexo		
Feminino	77	49,1
Masculino	80	50,9
Número de malformações <sup>(1)</sup>		
Limitadas	91	58,0
Extensas	59	37,5
Ausência de malformações congênitas	7	4,5
Subtipo Genético da Anemia de Fanconi		
Não realizado	37	23,6
Não identificado no screening	37	23,6
FANCA	60	38,2
FANCG	18	11,5
FANCC	05	3,1
Fase da doença pré-transplante		
Aplasia de Medula Óssea Grave	125	79,6
Hipoplasia de Medula Óssea	26	16,6
Mielodisplasia – Citopenia Refratária	5	3,2
Leucemia Mielóide Aguda	1	0,6
Citogenética de Medula Óssea		
Não realizada/ sem metáfases	49	31,2
Normal	80	51
Anormalidades Clonais	28	17,8
Tratamento Prévio		
Apenas transfusões e suporte	82	52,2
Andrógenos	53	33,8
Outros tratamentos <sup>(2)</sup>	22	14,0

FONTE: O autor (2014)

(1) Malformações congênitas foram classificadas em limitadas quando < que três sítios anatômicos estavam envolvidos e como malformações extensas quando ≥ três sítios estavam envolvidos, devendo envolver pelo menos um órgão interno (GUARDIOLA *et al.*, 2000).

(2) Outros tratamentos incluíram ciclosporina e corticosteroide com ou sem globulina anti-timocítica (12pts); corticoide isolado (9pts) e quimioterapia com Aractin + Daunoblastina(1pt).

Na época da realização do transplante a idade do paciente variou de três a 34 anos com uma mediana de oito anos. Nos 140 pacientes que receberam o transplante de um doador aparentado ou não aparentado, a idade deste doador variou de um a 64 anos com uma mediana de 16 anos. A maioria dos pacientes (95%) tinha um doador compatível, ou seja, um doador de medula óssea aparentado ou não aparentado compatível 10/10 (compatível em Locus A,B,C,DR e DQ) ou um doador de sangue de cordão umbilical compatível 6/6 ou 5/6 (compatível em locus A,B e DR). Outras características do paciente, do doador e do tipo do transplante estão descritos na tabela a seguir. Outras características do paciente, do doador e do tipo do transplante estão descritos na tabela a seguir.

TABELA 2 - CARACTERÍSTICAS DO TRANSPLANTE NOS 157 PACIENTES

VARIÁVEIS	NÚMERO DE PACIENTES	PERCENTAGEM
Tipo de doador		
Aparentado	112	71,3
Irmão	95	
Outro doador aparentado	17	
Não aparentado	45	28,7
Fonte de células-tronco		
Medula Óssea	139	88,6
Sangue de Cordão Umbilical	17	10,8
Sangue Periférico	1	0,6
CMV paciente IgG		
Positivo	122	77,7
Negativo	33	21,1
Não realizado	2	1,2
Incompatibilidade ABO		
Nenhuma	83	52,9
Incompatibilidade ABO menor	24	15,3
Incompatibilidade ABO maior	50	31,8
Sexo do doador e do receptor		
Sem diferença entre o sexo do doador e receptor	85	54,1
Doador Masculino/Receptor Feminino	42	26,8
Doador Feminino / Receptor Masculino	30	19,1
CMV doador IgG		
Positivo	101	64,3
Negativo	51	32,5
Não realizado	5	3,2

FONTE: O autor (2014)

NOTA: CMV: Citomegalovírus.

A ciclofosfamida (CFA) isolada foi utilizada como regime de condicionamento pré-transplante na maioria dos pacientes que receberam transplantes de doadores aparentados. A dose inicial de CFA (em 1983) foi de 200mg/kg e esta dose foi reduzida progressivamente até chegar ao limite de 60mg/kg em 1999. Subsequentemente, a dose de CFA permaneceu inalterada. Os pacientes que receberam transplantes de doadores não aparentados também foram tratados inicialmente com CFA isolada. A partir do ano 2000 a fludarabina (FLU) foi acrescentada à CFA e desde o ano de 2002 a associação de CFA, FLU e globulina anti-timocítica de coelho (ATG) tornou-se o regime padrão utilizado no transplante destes pacientes. Os regimes de condicionamento variaram de acordo com o tipo de doador (aparentado e não aparentado) e a fase da doença. Na Tabela 3 estão os regimes de condicionamento utilizados neste grupo assim como a profilaxia da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) utilizada neste primeiro transplante.

TABELA 3 - CARACTERÍSTICAS DOS REGIMES DE CONDICIONAMENTO UTILIZADOS NO PRIMEIRO TRANSPLANTE DOS 157 PACIENTES

REGIMES DE CONDICIONAMENTO NO PRIMEIRO TRANSPLANTE	NÚMERO DE PACIENTES	PERCENTAGEM %
CFA em dose alta $\geq 80\text{mg/kg}$	39	24,8
CFA 200mg/kg	5	
CFA 140mg/kg $\pm$ ATG	10	
CFA 120mg/kg	5	
CFA 100mg/kg	16	
CFA 80mg/kg	3	
CFA $\leq 60\text{mg/kg}$	70	44,6
CFA 60mg/kg	68	
CFA 15mg/kg	1	
CFA 60mg/kg + ATG	1	
CFA + FLU $\pm$ ATG 5mg/kg	43	27,4
CFA 60mg/kg + FLU $125\text{mg/m}^2$ + ATG 5mg/kg	40	
CFA+ FLU	3	
Regimes com ICT (200-400cGy)	5	3,2
FLU $125\text{mg/m}^2$ + ICT 200cGy	4	
CFA 40mg/kg + ICT 400 cGy	1	
Profilaxia da DECH		
Ciclosporina + Metotrexate	139	88,5
Ciclosporina + Corticoide	10	6,4
Outros	8	5,1

FONTE: O autor (2014)

NOTA: CFA: Ciclofosfamida; FLU: Fludarabina; ICT: Irradiação corporal total; ATG: Globulina anti-timocítica; DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro; pts: pacientes.

Dos 157 pacientes, sete foram submetidos a um segundo transplante e dois necessitaram de um terceiro transplante. Regimes preparatórios alternativos foram utilizados nestes pacientes e estão descritos na Tabela 4.

TABELA 4 - REGIMES DE CONDICIONAMENTO UTILIZADOS NO SEGUNDO E TERCEIRO TRANSPLANTE

REGIMES DE CONDICIONAMENTO	NÚMERO DE PACIENTES
Segundo transplante:	
CFA 60mg/kg + FLU $125\text{mg/m}^2$ $\pm$ ATG	4
CFA 80mg/kg	1
FLU $150\text{mg/m}^2$ + ICT 200 cGy	1
ICT 200 cGy + ATG	1
Terceiro transplante:	
BU 4mg/kg + ICT 200 rads	1
FLU $125\text{mg/m}^2$ + ICT 200 rads	1

FONTE: O autor (2014)

NOTA: CFA: Ciclofosfamida; FLU: Fludarabina; BU: Bussulfano; ICT: Irradiação corporal total; ATG: Globulina anti-timocítica.

### 3.7 DEFINIÇÕES

#### 3.7.1 Diagnóstico da Anemia de Fanconi

Todos os pacientes deste estudo tiveram a confirmação do diagnóstico por meio de testes de instabilidade cromossômica. Dois agentes clastogênicos foram utilizados pelo Serviço de Citogenética do HC-UFPR de acordo com a época do transplante: Cisplatina (entre 1988 a 1995) e o diepoxibutano (DEB) entre 1996 e 2011. O DEB é amplamente utilizado e os resultados apresentam alta sensibilidade e reprodutibilidade. Os detalhes do método diagnóstico assim como os valores de referência estão estabelecidos na literatura internacional (POLL *et al.*, 1982; AUERBACH; ROGATKO; SCHROEDER-KURTH, 1989). O serviço de Citogenética do HC-UFPR tem uma grande experiência na realização do DEB teste e até dezembro de 2013 realizou aproximadamente 1800 testes em pacientes encaminhados por suspeita do diagnóstico de AF.

A estratégia adotada para a investigação molecular dos pacientes com AF em nosso serviço está descrita no Apêndice 2.

#### 3.7.2 DECH crônica

A DECH crônica foi classificada conforme os critérios estabelecidos pelo Consenso do Instituto Nacional de Saúde (NIH) Norte Americano (FILIPOVICH *et al.*, 2005) e foi dividido em leve, moderada ou grave de acordo com a quantidade e intensidade dos órgãos envolvidos.

### 3.7.3 Quimerismo

A análise do quimerismo realizada por meio do uso de marcadores VNTR começou em 1995. Este método utiliza gel de poliacrilamida para separação de fragmentos amplificados e sais de prata como coloração para a visualização desses. A comparação é feita de maneira visual de acordo com a intensidade das bandas. A partir de 2009, a análise do quimerismo vem sendo realizada através do uso de marcadores STR. Neste método a separação e a identificação dos fragmentos são realizadas por eletroforese capilar (sequenciador) e os resultados são mais precisos. Durante a padronização do quimerismo através do STR, não houve diferença entre os resultados obtidos através do método novo ou antigo. Ou seja, a sensibilidade dos métodos foi exatamente a mesma e os pacientes que tinham quimerismo completo, misto ou ausente na análise do VNTR mantiveram um *status* equivalente no método STR.

O quimerismo completo foi definido como a presença de mais de 95% de células do doador e o quimerismo misto como a presença de 95% ou menos de células do doador. A ausência de células do doador foi definida quando o quimerismo era menor do que 5%.

### 3.7.4 Função gonadal

A puberdade foi definida como a fase da adolescência onde ocorre o aparecimento e desenvolvimento das características sexuais secundárias e foi considerada normal quando ocorreu entre os nove e 14 anos nos meninos e entre os oito e 13 anos nas meninas. A puberdade precoce foi definida como o aparecimento dos caracteres sexuais antes dos oito anos de idade nas meninas e dos nove anos de idade nos meninos. A puberdade tardia ou atraso da puberdade foi definida nas meninas como a ausência de caracteres sexuais secundários aos 13 anos ou há mais de cinco anos em puberdade sem menarca e nos meninos como a ausência de

caracteres sexuais secundários aos 14 anos ou sem maturação completa após 4,5 anos do início da puberdade (ROSENFIELD *et al.*, 2008).

A função gonadal normal foi definida pela ocorrência espontânea da puberdade, menstruação regular nas meninas e níveis normais para a idade de hormônio luteinizante (LH) ou hormônio folículo-estimulante (FSH). O eixo hipotálamo-hipofisário foi avaliado através da dosagem dos níveis séricos de FSH e LH e avaliação clínica da puberdade através dos critérios de Tanner. Hipogonadismo secundário à disfunção gonadal foi definido como um FSH basal maior do que 15 IU/l ou um LH basal maior do que 10 IU/l, associado a níveis baixos de estradiol nas meninas e de testosterona nos meninos ou a necessidade de reposição de hormônios sexuais (SHALITIN *et al.*, 2006; TRIVIN *et al.*, 2007).

### 3.7.5 Hipotireoidismo

O hipotireoidismo clínico foi diagnosticado bioquimicamente pela concentração sérica de TSH  $\geq 4,5$  mU/L na presença de níveis baixos do T4L. O hipotireoidismo subclínico foi diagnosticado bioquimicamente pela concentração sérica de TSH  $\geq 4,5$  mU/L na presença de níveis normais do T4L (BRENTA *et al.*, 2013).

## 3.8 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

Os resultados de dados fenotípicos, as informações sobre as manifestações clínicas dos pacientes e as características gerais dos transplantes foram apresentados por meio de estatísticas descritivas. As variáveis qualitativas foram descritas por frequências e percentuais. As variáveis quantitativas foram analisadas por meio das estatísticas de média, mediana, valor mínimo e valor máximo.

A associação entre variáveis qualitativas dicotômicas foi avaliada pelo teste exato de Fisher e pelo teste Qui-quadrado de acordo com as frequências observadas. Para a análise univariada de sobrevida, na comparação entre grupos, foi considerado o teste não paramétrico de Log-rank.

A análise multivariada foi realizada através do modelo de regressão semi-paramétrico de Cox. Para a seleção das variáveis que foram incluídas neste modelo, foi utilizado o procedimento *stepwise* com o objetivo de selecionar o conjunto de covariáveis significativas. As estimativas de sobrevida foram calculadas usando-se o método de Kaplan-Meier.

Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o software R version 3.0.2 (CARVALHO *et al.*, 2005; COLOSIMO; GIOLO, 2006).

## 4 RESULTADOS

Os 157 pacientes que sobreviveram mais de dois anos pós-transplante foram transplantados entre 07.1988 e 12.2011 e a data de fechamento da análise foi em 31.12.2013.

O número de células nucleares totais infundidas variou de 1,71 a 13,41 x 10<sup>8</sup>/kg (Mediana: 4,58 x 10<sup>8</sup>/kg) nos transplantes de medula óssea e de 2,0 a 13,6 x 10<sup>7</sup>/kg (Mediana: 6,03 x 10<sup>7</sup>/kg) nos transplantes de sangue de cordão umbilical. Apenas um transplante de células-tronco periféricas foi realizado e a quantidade de células nucleares totais infundidas foi de 9,1 x 10<sup>8</sup>/kg.

### 4.1 SOBREVIDA GLOBAL

A mediana de sobrevida dos 157 pacientes foi de 8,6 anos variando entre 2,05 a 25,4 anos. Neste grupo, a probabilidade de sobrevida aos cinco anos foi de 95%, aos 10 anos de 90% e aos 15 anos de 79%. Cento e trinta e sete pacientes continuam vivos e a mediana de acompanhamento foi de 8,7 anos (2,05 a 25,4 anos). A curva da sobrevida global está ilustrada na Figura 3.

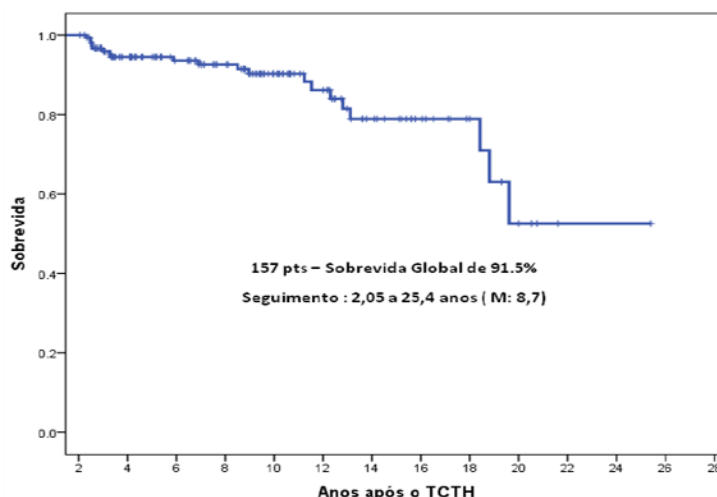


FIGURA 3 - SOBREVIDA GLOBAL APÓS DOIS ANOS DE TRANSPLANTE NOS 157 PACIENTES TRANSPLANTADOS

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: TCTH: Transplante de Células-tronco Hematopoéticas.

Teste Estatístico: Curva de Sobrevida: Método de Kaplan Meier.



Na tabela 5, estão apresentados os fatores que influenciaram a sobrevida global de acordo com a análise univariada.

TABELA 5 - ANÁLISE UNIVARIADA DA SOBREVIDA GLOBAL

VARIÁVEIS	NÚMERO DE PTS	SOBREVIDA GLOBAL AOS 8,7 ANOS (%)	p-VALOR
Idade			
< 11 anos	109	95	0,27
≥ 11 anos	48	83	
Sexo			
Feminino	77	91	0,95
Masculino	80	92	
Época do TCTH			
≤ 2002	59	69	0,008
≥ 2003	98	98	
Incompatibilidade ABO			
Sim	83	92	0,43
Não	74	90	
Tipo de doador			
Aparentado	112	88	0,13
Não Aparentado	45	97	
Fonte de células			
Medula Óssea	139	90	0,15
Sangue de cordão	17	100	
Transfusões prévias			
≤ 20 U	113	92	0,23
> 20 U	44	89	
DECH-Crônica			
Sim (leve, moderada ou grave)	56	78	0,004
Não	101	96	
CEC de boca			
Sim	12	33	0,0001
Não	145	92	

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: CEC: Carcinoma Espinocelular; TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas; DECH: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro.  
Tese Estatístico: Teste de Log-rank.

Outros fatores como as alterações citogenéticas pré-TCTH, presença de malformações congênitas extensas ou limitadas, identificação ou não do grupo de complementação, CMV do paciente IGG reagente ou não reagente, diferença entre o sexo do paciente e do doador, regimes de condicionamento, número de células nucleadas totais infundidas, profilaxia da DECH ou quimerismo misto não afetaram de maneira significativa a sobrevida global ( $p > 0,05$ ).

Tanto na análise univariada quanto na multivariada, a presença de DECH crônica, a época do TCTH e o desenvolvimento do câncer influenciaram de maneira negativa a sobrevida dos pacientes. A taxa de morte em pacientes que tiveram câncer foi estimada em 5,3 vezes a dos pacientes que não tiveram, assim como o taxa de morte é 3,2 vezes maior do que a dos pacientes que tiveram DECH. Aqueles

transplantados entre 2003 e 2011 tiveram uma sobrevida melhor e um risco 4,7 vezes menor de morrer do que os pacientes transplantados nos anos anteriores. Os resultados estão descritos na Tabela 6.

TABELA 6 - ANÁLISE MULTIVARIADA DOS FATORES QUE TIVERAM IMPACTO NA SOBREVIVÊNCIA

CO VARIÁVEL	RISCO RELATIVO	IC (R.R.)	p- VALOR
Presença de câncer	5,30	(1,93: 14,53)	0,001
TMO antes de 2003	4,71	(0,97: 22,67)	0,005
DECH crônica	3,24	(1,27: 8,29)	0,01

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: IC: Intervalo de Confiança; RR: Risco relativo; DECH: doença do enxerto contra o hospedeiro.  
Teste Estatístico: Modelo de regressão de Cox.

Na data do último contato ou óbito a idade dos pacientes variou de seis a 40 anos com uma mediana de 18 anos.

No gráfico abaixo observa-se a divisão dos 137 pacientes vivos de acordo com a faixa etária, na data do último contato.

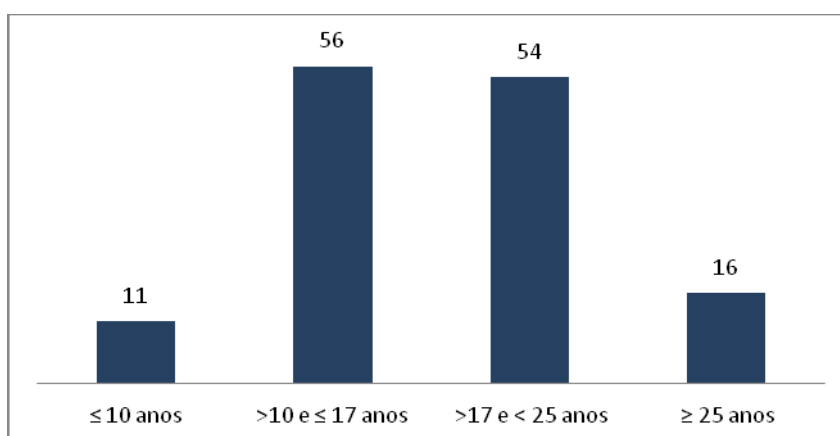


GRÁFICO 3 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO DE PACIENTES VIVOS, DE ACORDO COM A IDADE NA DATA DO ÚLTIMO CONTATO

FONTE: O autor (2014)

## 4.2 ANÁLISE DO QUIMERISMO PÓS-TCTH

Antes de 1995, a análise inicial do quimerismo foi feita através da citogenética de sangue periférico ou medula óssea (quando existia diferença entre o sexo do paciente e doador) ou tipagem sanguínea, no caso de incompatibilidade ABO.

Cento e quarenta e sete pacientes tiveram a análise do quimerismo realizada através do VNTR ou STR durante o período do estudo e 76% apresentaram

quimerismo completo. O quimerismo misto ocorreu em 35 pacientes e destes, 27 tinham quimerismo entre 90-95%, seis tinham valores entre 70 – 90% e apenas dois tinham quimerismo abaixo de 35%. Os gráficos abaixo ilustram os resultados da análise de quimerismo em todo o grupo de pacientes. No Gráfico 4a observa-se a proporção de pacientes que atingiram quimerismo completo ou misto. Nos Gráficos 4b e 4c estão descritos o tipo de quimioterapia utilizada durante o condicionamento e a quantidade de pacientes que atingiram um quimerismo misto ou completo. O Gráfico 4b ilustra que os pacientes que receberam fludarabina apresentam uma probabilidade significativamente maior de atingirem um quimerismo completo quando comparados àqueles que receberam apenas ciclofosfamida ( $p = 0,0001$ ). O Gráfico 4c ilustra a proporção de pacientes que atingiram quimerismo completo de acordo com a dose de ciclofosfamida utilizada (dose alta x dose baixa) e com o uso de esquemas que continham fludarabina.

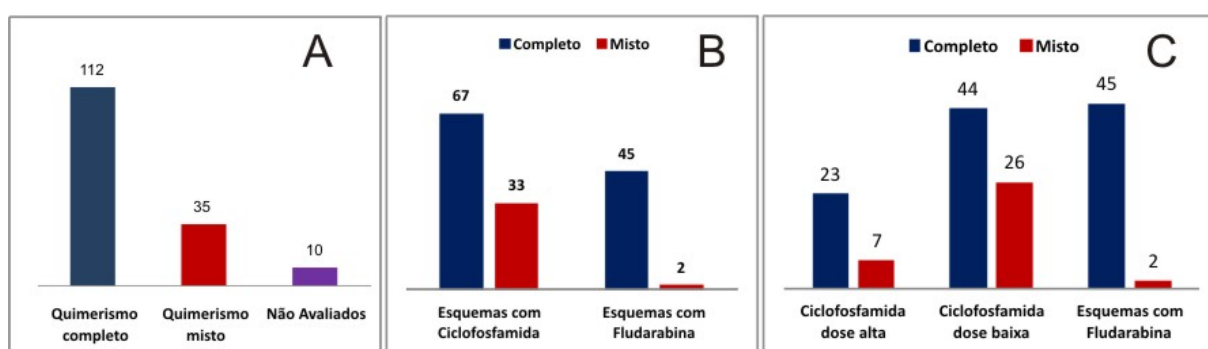


GRÁFICO 4 - ANÁLISE DO QUIMERISMO NOS 147 PACIENTES AVALIADOS PÓS TRANSPLANTE

FONTE: O autor (2014)

NOTA: 4a) Número de pacientes e o grau de quimerismo; 4b) Frequência do quimerismo completo de acordo com a quimioterapia pré-TCTH ( número de pacientes); 4c) Frequência do quimerismo completo de acordo com a intensidade do regime de condicionamento ( número de pacientes).

No entanto, quando comparamos apenas a CFA em dose alta com os pacientes que receberam CFA em dose baixa, não se observa diferença significativa na presença de quimerismo completo ou misto ( $p = 0,26$ ).

O grau de quimerismo também variou de maneira significativa de acordo com o tipo de doador ( $p = 0,0001$ ) sendo que o quimerismo misto foi raramente observado nos pacientes que receberam transplantes de doadores não aparentados e pode estar relacionado ao uso de fludarabina na maioria dos transplante entre não aparentados.

Oito pacientes apresentaram rejeição do enxerto antes dos dois anos de transplante sendo que seis deles foram resgatados com um segundo ou terceiro transplante e estavam com hemograma normal e quimerismo completo na entrada deste estudo. Os outros dois pacientes apresentavam hemograma com pancitopenia e aguardavam um segundo transplante na época da sua inclusão neste estudo. Apenas um paciente submetido a um TMO não aparentado compatível em 2001, cujo regime de condicionamento incluiu apenas fludarabina e ICT 200 rads, rejeitou após 1098 dias de transplante. Este paciente não foi submetido a um segundo transplante e morreu em decorrência da pancitopenia e infecções.

Dos 137 pacientes vivos até a data do último contato, todos os que apresentavam quimerismo misto tinham hemograma normal. Apenas quatro pacientes, todos com quimerismo completo do doador em todas as linhagens celulares apresentavam plaquetas em torno de 84 a 120.000/ $\mu$ l na data do último contato (aos 5, 8, 10 e 18 anos pós-transplante). Um dos pacientes apresentava plaquetopenia de 104.000/ $\mu$ l na data do último contato devido ao tratamento quimioterápico de um CEC de cavidade oral diagnosticado 18 anos pós-TCTH. O hemograma era normal antes desta complicação.

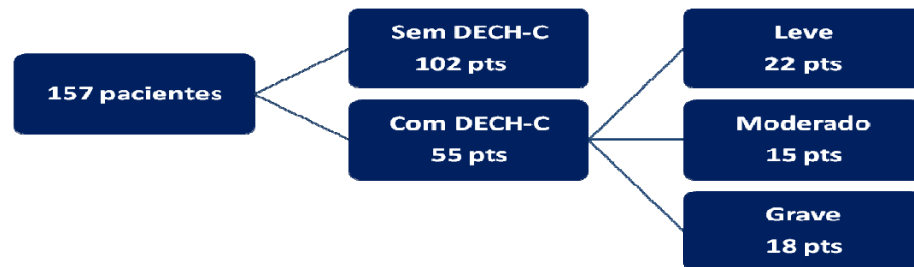
Em dez pacientes não foi realizada nenhuma análise do quimerismo por meio do VNTR ou do STR. Neste grupo de pacientes, sete tiveram DECH crônica extensa e um converteu para a tipagem do doador. Os outros dois, apesar da normalização do hemograma e mielograma, não tiveram nenhuma avaliação que pudesse comprovar a pega do enxerto.

#### 4.3 DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO

Dos 157 pacientes analisados, 31 tinham história prévia de DECH aguda sendo que 19 apresentaram DECH agudo grau II e 12 tiveram grau III-IV.

A DECH crônica ocorreu em 55 pacientes numa mediana de 125 dias pós-transplante (variação de 45 a 575 dias), sendo que 49% tinham história de DECH aguda prévia. Dos pacientes com DECH crônica, 32 apresentavam atividade da doença (16 pacientes) ou estavam em tratamento (16 pacientes) aos dois anos de transplante. Dentre estes, cinco (16%) tinham um ou dois órgãos envolvidos, seis

(19%) tinham três órgãos e 21 (65%) tinham quatro ou mais órgãos envolvidos. O fluxograma abaixo ilustra a classificação da DECH Crônica de acordo com os critérios globais estabelecidos pelo Instituto Nacional de Saúde Norte Americano (*NIH*).



FLUXOGRAMA 2 - CLASSIFICAÇÃO DOS PACIENTES COM DECH CRÔNICA DE ACORDO COM OS CRITÉRIOS DO *NIH*

FONTE: O autor (2014)

NOTA: DECH-C: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro Crônica; pts: pacientes.

Os órgãos ou sítios envolvidos nos 32 pacientes que apresentavam atividade da doença ou estavam em tratamento aos dois anos de transplante estão apresentados no Gráfico 5.

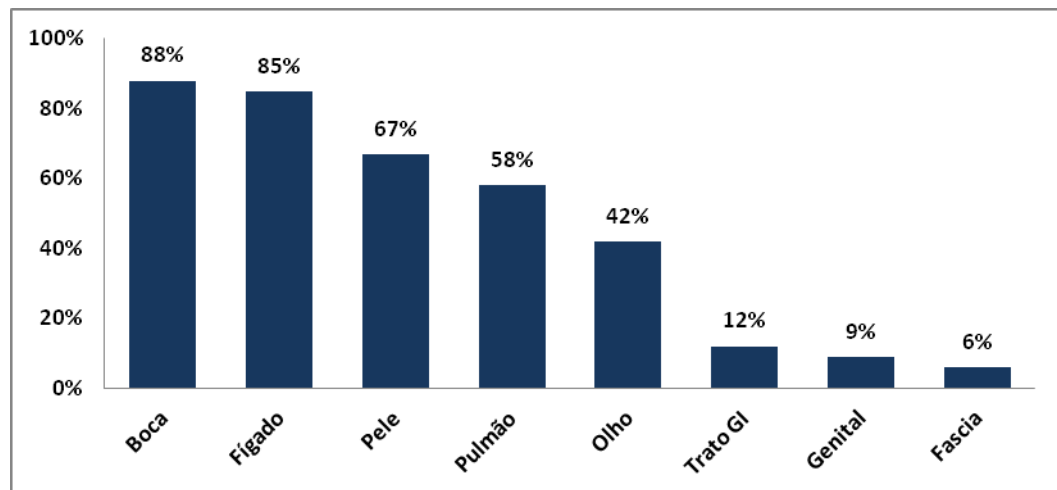


GRÁFICO 5 - ÓRGÃOS/SÍTIOS ENVOLVIDOS PELA DECH CRÔNICA NOS 32 PACIENTES AOS DOIS ANOS PÓS-TRANSPLANTE

FONTE: O autor (2014)

NOTA: GI: gastro intestinal.

Um total de 14 pacientes ainda estava em uso de imunossupressão ou usou imunossupressão até do último contato ou óbito com uma mediana de uso de seis anos pós-TCTH (dois a 10 anos).

A incidência cumulativa de DECH crônica foi de 35% aos dois anos pós-transplante conforme a curva descrita na Figura 4.

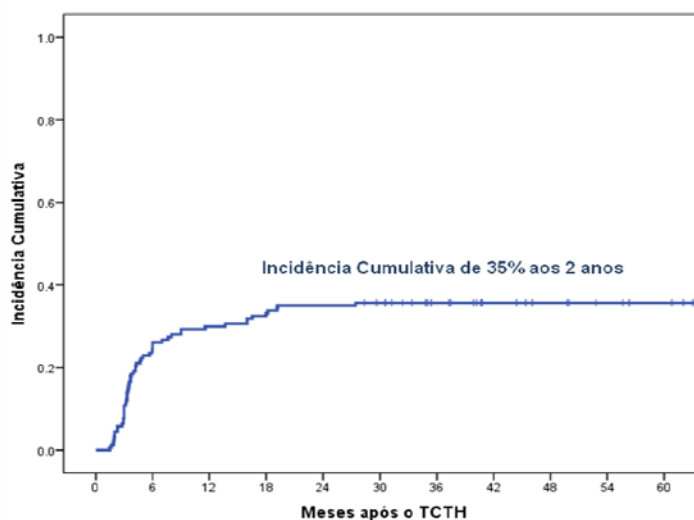


FIGURA 4 - INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE DECH CRÔNICA AOS DOIS ANOS PÓS-TCTH

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: DECH-C: Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro Crônica.

Teste Estatístico: Método de Kaplan Meier.

Na Tabela 7 está descrita a análise univariada dos fatores que foram significativos em relação à incidência da DECH crônica.

TABELA 7 - ANÁLISE UNIVARIADA DOS FATORES QUE INFLUENCIARAM A INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE DECH CRÔNICA

VARIÁVEIS	NÚMERO DE PTS	INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE DECH CRÔNICA AOS 2 ANOS (%)	p-VALOR
Idade			
< 11 anos	109	27	0,0001
≥ 11 anos	48	56	
Sexo paciente x doador			
Doador F – Receptor M	31	55	0,01
Outra combinação	126	21	
Transfusões prévias			
≤ 20 U	113	27	0,009
> 20 U	44	60	
Quimerismo misto			
Sim	35	9	0,0001
Não	112	41	
CMV paciente IgG			
Positivo	122	40	0,01
Negativo	33	15	

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: F: feminino; M: masculino; CMV: citomegalovírus.

Teste Estatístico: Teste de Log-Rank.

Na análise univariada, outros fatores como o tipo de doador, a fonte de células-tronco e incompatibilidade ABO, compatibilidade HLA e ano de transplante não afetaram de maneira significativa a incidência de DECH crônica.

Na análise multivariada, apenas a idade menor que 11 anos e a presença de quimerismo misto estiveram relacionadas a uma menor incidência de DECH crônica enquanto que os pacientes que receberam mais do que 20 transfusões tiveram um risco significativamente maior de desenvolverem esta complicação. Estes dados estão descritos na Tabela 8.

TABELA 8 - ANÁLISE MULTIVARIADA (MODELO DE COX) DOS FATORES QUE INFLUENCIARAM A INCIDÊNCIA DA DECH CRÔNICA

COVARIÁVEL	RISCO RELATIVO	IC (R.R)	p - VALOR
Idade < 11 anos	0,27	(0,15; 0,47)	0,00001
Quimerismo misto	0,14	(0,05; 0,40)	0,0002
Transfusões > 20 U	2,11	(1,20; 3,72)	0,009

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: IC: Intervalo de Confiança; R.R: Risco relativo.

Teste Estatístico: Modelo de regressão de Cox.

Outras complicações relacionadas a DECH crônica:

- Catorze pacientes apresentaram Diabetes Mellitus (DM), todos relacionados ao tratamento com corticoide ou tacrolimus. Onze tiveram um DM insulino-dependente enquanto três foram tratados com hipoglicemiantes orais. Três pacientes ainda usam insulina entre 5 e 8 anos após o início de tratamento.
- Um paciente com DECH crônica ainda em uso de tacrolimus, apresentou um quadro de anemia hemolítica microangiopática 10 anos pós-transplante com evolução para insuficiência renal grave, necessidade de hemodiálise e óbito.
- Dois pacientes desenvolveram catarata, provavelmente relacionada ao uso de corticoide para o tratamento da DECH. Estes pacientes foram operados com sucesso.

#### 4.4 ANÁLISE DOS PACIENTES QUE DESENVOLVERAM CÂNCER

##### 4.4.1 Carcinoma Espinocelular (CEC) de cavidade oral

Dos 242 pacientes transplantados entre 1983 a 2011 , nenhum paciente teve um diagnóstico de câncer antes dos dois anos de transplante.

Dos 157 pacientes incluídos neste estudo, foram observados 12 casos de CEC de cavidade oral. Deste grupo, sete pacientes receberam regimes de condicionamento com ciclofosfamida em doses  $\geq 100\text{mg/kg}$  e dez tiveram mucosite grau III e IV na época do transplante. Na maioria dos casos (75%), o diagnóstico do CEC foi feito em fase avançada da doença sem possibilidade de tratamento curativo. Oito pacientes (67%) tinham história prévia de doença do enxerto contra o hospedeiro aguda ou crônica. A toxicidade ao tratamento foi importante e 100% dos pacientes que receberam quimioterapia ou radioterapia apresentaram mucosite grau III a IV. A maior causa de óbito foi a progressão da doença que ocorreu em oito dos 12 pacientes. As características de cada paciente, as complicações relacionadas ao TCTH, o estadiamento e a evolução dos pacientes em relação ao CEC encontram-se na Tabela 9. O estadiamento dos pacientes seguiu a classificação internacional TNM: T tamanho do tumor; N: nível de cadeia de linfonodos acometida e M: presença de metástases (BRASIL, 2004).



TABELA 9 - CARACTERÍSTICAS DOS 12 PACIENTES QUE DESENVOLVERAM UM CEC DE CAVIDADE ORAL PÓS-TCTH

ID	IDADE TCTH (anos)	SEXO	DATA TCTH TIPO DE DOADOR	CFA DOSE MG/KG	GRAU DE MUCOSITE	DECH	IDADE NO CÂNCER (anos)	TEMPO PÓS-TCTH (anos)	LOCAL DO TUMOR ESTADIAMENTO TRATAMENTO	EVOLUÇÃO
ECB	4	M	08.89 Aparentado	200	IV	Crônico	16	11	Língua T3N0M0 Paliativo	Óbito por progressão da doença
AJN	20	M	09/91 Aparentado	200	IV	Agudo Crônico	25	4	Língua T3N0M0 Cirurgia	Óbito por progressão da doença
CPK	7	M	04/95 Aparentado	100	IV	Não	18	11	Língua T2N0M0 Cirurgia, QT e RXT	Óbito por progressão da doença
MPL	7	M	02/96 Aparentado	100	IV	Não	24	17	Língua T4N2M0 Cirurgia, QT e RXT	Vivo com progressão da doença
SFS	18	M	07/96 Aparentado	100	IV	Não	30	11	Língua T2N0M0 Cirurgia	Óbito por progressão da doença
CCJ	6	M	02/97 Aparentado	100	IV	Crônico	11	5	Língua T2NXM0 Cirurgia	Óbito por progressão da doença
MCS	8	F	11/97 Aparentado	100	III	Não	18	10	Língua T1N0M0 Cirurgia	Viva sem doença após 7 anos do diagnóstico
RCP	6	F	11/00 Aparentado	60	IV	Agudo Crônico	12	6	Língua T2N0M0 Cirurgia E RXT	Óbito por progressão da doença
NAS	7	M	04/02 Aparentado	60	II	Agudo Crônico	15	8	Língua T3NXM0 Paliativo	Óbito por progressão da doença
WAS	10	M	01/04 Aparentado	60	III	Agudo Crônico	15	5	Língua T1N0M0 Cirurgia	Vivo sem doença 5 anos após o diagnóstico
ECS	24	F	09/06 Aparentado	60	III	Agudo Crônico	28	3	Gêniva e palato T2N0M0 Cirurgia e RXT	Vivo com doença em atividade
SDS	34	F	02/08 Aparentado	60	II	Agudo Crônico	36	2	Língua, palato duro T4N0M0 Cirurgia	Óbito por complicações no pós-operatório imediato

FONTE:O autor

NOTA: M: masculino; F: feminino; DECH: Doença do Enxerto contra o hospedeiro. TNM: T tamanho do tumor; N: comprometimento dos linfonodos; M: metástases. RXT: radioterapia QT: quimioterapia.

A incidência cumulativa de câncer foi de 8% aos 10 anos pós-TCTH, sendo que o risco para o desenvolvimento do câncer em dois anos foi de 5% e de 14% aos 15 anos. Esta curva está demonstrada na Figura 5.

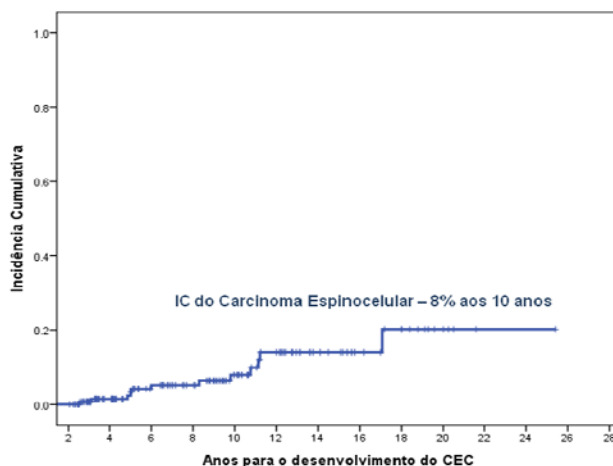


FIGURA 5 - INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE CÂNCER NOS 157 PACIENTES

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: IC: Incidência Cumulativa.

TESTE ESTATÍSTICO: Método de Kaplan Meier.

Na análise univariada, os principais fatores que estiveram associados ao desenvolvimento do câncer foram a presença de DECH aguda ou crônica.

TABELA 10 - INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE CÂNCER DE ACORDO COM A PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE DECH

VARIÁVEL	INCIDÊNCIA CUMULATIVA DE CÂNCER AOS 10 ANOS	p-VALOR
DECH-A	Sem DECH-A: 5% Com DECH-A: 19%	0,0001
DECH-C	Sem DECH-C: 4% Com DECH-C 27%	0,001

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: DECH-A: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro Aguda; DECH-C: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro Crônica.

Teste Estatístico: Teste de log-rank.

Na análise multivariada, nenhum fator atingiu significância estatística (Tabela 11).

TABELA 11 - ANÁLISE MULTIVARIADA EM RELAÇÃO AO DESENVOLVIMENTO DO CÂNCER

COVARIÁVEL	RISCO RELATIVO	IC (R.R.)	p- VALOR
TMO após 2003	0,59	(0,13 : 2,63)	0,49
Sexo M/F	1,91	(0,54 : 6,69)	0,31
DECH Aguda	3,59	(0,78: 16,38)	0,09
DECH Crônica	3,13	(0,63 : 15,38)	0,16

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: DECH: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro; M: Masculino; F: Feminino; IC: Intervalo de Confiança.

Teste Estatístico: Modelo de regressão de Cox.

Nos pacientes que tiveram DECH crônica o CEC de cavidade oral ocorreu numa idade mais jovem (Mediana de 16 anos) e após um período mais curto pós-TCTH (Mediana de 5,5 anos) quando comparados aos pacientes que não tiveram DECH crônica cuja mediana de idade foi de 21 anos e o tempo pós-TCTH foi de 11 anos.

TABELA 12 - IDADE DO APARECIMENTO DO CEC DE CAVIDADE ORAL E TEMPO DE SEGUIMENTO PÓS-TCTH

	SEM DECH CRÔNICA 102 PACIENTES	COM DECH CRÔNICA 55 PACIENTES
Número de pacientes	4	8
Idade ao TCTH	7 a 18 anos (M: 12,5)	4 a 34 anos (M:8,5)
Idade ao diagnóstico do CEC	18 a 30 anos (M:21)	11 a 36 anos (M:16)
Tempo após o TCTH	10 a 17 anos (M:11)	2 a 11 anos (M:5,5)
Condicionamento	CFA 60 e CFA 100	CFA 60 e CFA 200

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas; CEC: Carcinoma Espinocelular; CFA: ciclofosfamida mg/kg; M: Mediana.

#### 4.4.2 Outros tipos de câncer

Cinco pacientes desenvolveram câncer pré ou pós-TCTH. As características dos pacientes que tiveram o diagnóstico do câncer após dois anos do TCTH, assim como o tipo de câncer estão apresentadas na Tabela 13. Uma descrição mais detalhada de todos os casos encontra-se no Apêndice 3.

TABELA 13 - OUTROS TIPOS DE CâNCER ENCONTRADOS NOS 157 PACIENTES TRANSPLANTADOS

ID	IDADE (anos) SEXO	TIPO DE TCTH. FONTE DE CÉLULAS	ANO TCTH	TIPO DE NEOPLASIA	TEMPO PÓS-TCTH (anos)	TRATAMENTO E EVOLUÇÃO
ES	24/F	Aparentado MO	09/06	CA Basocelular	3	Cirurgia. Recaída do CA basocelular nasal. Nova cirurgia. Em remissão
				Doença de Bowen	3.2	
AS	6/F	Não aparentado MO	07/07	LH clássico celularidade mista	4	EC I tratada com QT e Rituximab (PCR EBV+ no sangue). Em remissão até o momento
LT	6/F	Aparentado MO	05/97	Tumor cerebral sugestivo de glioblastoma multiforme	12	Óbito por complicações no pós-operatório imediato

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas; MO: Medula Óssea; SC: Sangue de Cordão Umbilical; F: Feminino; M: Masculino; CA: Carcinoma; LH: Linfoma de Hodgkin; EC I: Estadio Clínico I; QT: Quimioterapia; PCR: *polimerase chain reaction*; EBV: Epstein Barr.

## 4.5 COMPLICAÇÕES ENDOCRINOLÓGICAS PÓS-TCTH

### 4.5.1 Tireoide

Cento e quarenta e quatro pacientes foram avaliados em relação a função da tireoide sendo que 107 (74%) tinham exames normais. Vinte e nove pacientes apresentaram hipotireoidismo pós-transplante e 59% destes receberam tratamento com levotiroxina. As características destes dois grupos estão descritas na Tabela 14.

Sete pacientes apresentavam diagnóstico de hipotireoidismo pré-transplante sendo que cinco faziam uso de levotiroxina e dois apresentavam apenas hipotireoidismo subclínico (HSC) sem tratamento. Destes, um paciente desenvolveu hipotireoidismo franco dois anos pós-transplante. O hipertireoidismo ocorreu em apenas uma paciente, 16 anos pós-transplante, aos 36 anos de idade.

TABELA 14 - DESCRIÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM FUNÇÃO TIREOIDIANA NORMAL PÓS-TCTH E DOS PACIENTES QUE APRESENTARAM HIPOTIREOIDISMO

	AVALIAÇÃO NORMAL 107 PACIENTES	HIPOTIREOIDISMO PÓS-TCTH 29 PACIENTES
Idade ao TCTH (Mediana)	3 -34 anos (M: 8)	3 – 24 anos (Mediana:8)
Sexo	51F/56M	16F/13M
Idade no último contato (Mediana)	6 – 37 anos (M:18)	14 – 31 anos (Mediana:16)
Tipo de TCTH	Aparentado: 62 pts	Aparentado: 18 pts
	Não Aparentado: 30pts	Não Aparentado: 10 pts
Regime de Condicionamento	Outro Aparentado: 15 pts	Outro Aparentado: 1 pt
	CFA≥80mg/kg: 20 pts	CFA≥80mg/kg: 8 pts
	CFA≤ 60mg/kg: 85 pts	CFA 60mg/kg: 20 pts
	Outros: 2 pts	Outro: 1 pt
Tempo para o desenvolvimento do hipotireoidismo pós-TCTH (Mediana)		1 – 16 anos (Mediana:4)
Idade ao desenvolvimento do hipotireoidismo pós-TCTH (Mediana)		8 – 32 anos (Mediana:13 anos)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas; pts: Pacientes; F: Feminino; M: Masculino; CFA: ciclofosfamida.

### 4.5.2 Gônadas

Cento e trinta e um pacientes foram incluídos nesta análise por apresentarem uma avaliação clínica da puberdade (Critérios de Tanner) e exames do eixo hipotálamo-hipofisário (FSH e LH). Foram excluídos 15 pacientes por estarem em fase pré-púbere até a data da última consulta ou óbito e 11 pacientes pela impossibilidade de realizar os exames pertinentes.

No gráfico abaixo, observa-se o número de pacientes com alteração da função gonadal após o TCTH de acordo com o sexo.

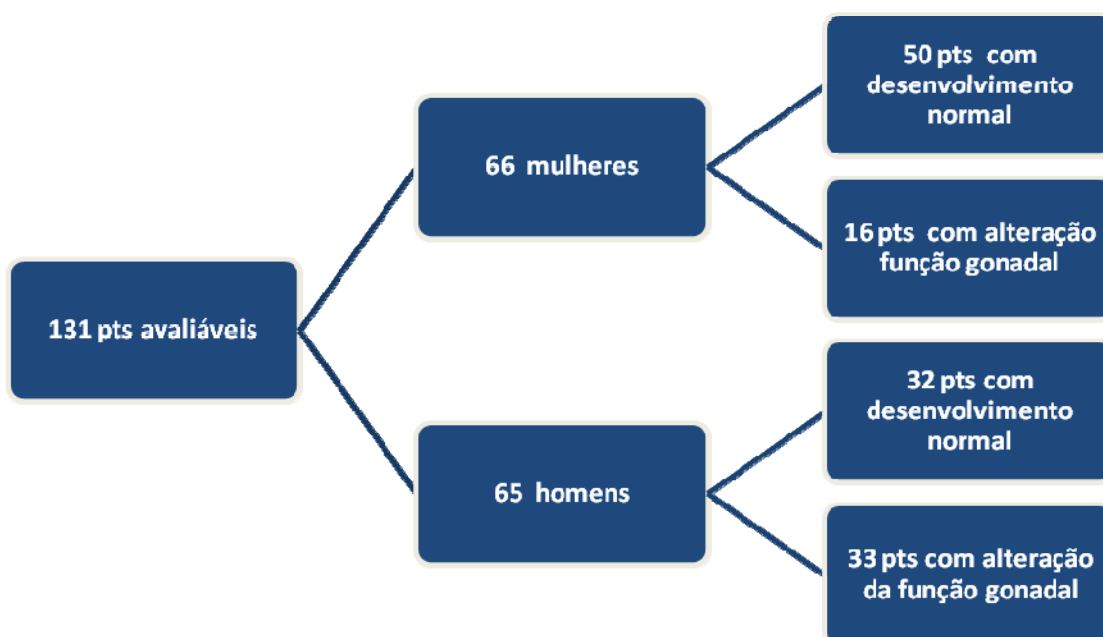


GRÁFICO 6 - ALTERAÇÃO DA FUNÇÃO GONADAL PÓS-TCTH DE ACORDO COM O SEXO DO PACIENTE (131 PACIENTES AVALIÁVEIS)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: pts: Pacientes.

#### 4.5.2.1 Descrição da função gonadal pós-TCTH nas mulheres com AF

Deste grupo, 54 mulheres foram transplantadas em fase pré-púbere; sete em puberdade e cinco em fase pós-púbere. A função gonadal e o desenvolvimento puberal foi considerado normal em 50 das 66 mulheres avaliadas.

Nas 50 mulheres com desenvolvimento normal, 43 apresentaram menarca entre 10 e 15 anos de idade (Mediana: 12 anos) e a idade no último contato variou de 11 a 31 anos (Mediana: 18 anos). Sete meninas com idade entre 11 e 13 anos

também apresentam desenvolvimento puberal normal mais ainda não menstruaram até a data do último contato.

Dezesseis mulheres (24%) apresentaram alteração no desenvolvimento puberal ou na função gonadal até a data do último contato ou óbito. Quatro eram adolescentes entre 13 e 15 anos e 12 atingiram a idade adulta e tinham entre 17 e 40 anos de idade (Mediana: 22). A falência ovariana foi confirmada em sete das mulheres adultas numa mediana de 19 anos de idade. A descrição das alterações encontra-se na Tabela 15.

#### 4.5.2.2 Descrição da função gonadal pós-TCTH nos homens com AF

Deste grupo, 54 homens foram transplantados em fase pré-púbere, sete em puberdade e quatro em fase pós-púbere. A função gonadal e o desenvolvimento puberal foi considerado normal em 32 dos 65 homens avaliados.

Destes 32 homens, 17 tinham idade entre 11 e 15 anos e estavam desenvolvendo a puberdade normalmente até a data do último contato ou óbito. Quinze pacientes entre 16 e 36 anos de idade (Mediana:19,5) haviam completado a puberdade e apresentavam exames hormonais normais. Nenhum paciente deste grupo realizou um espermograma para avaliação da fertilidade.

Trinta e três homens (51%) apresentaram desenvolvimento puberal anormal ou alteração da função gonadal até a data do último contato ou óbito. A idade neste grupo variou de 14 a 33 anos com uma mediana de 20 anos. Apenas dois pacientes realizaram um espermograma para avaliação da fertilidade e ambos apresentavam azoospermia. A descrição das alterações encontradas neste grupo encontra-se na Tabela 15.

TABELA 15 - DESENVOLVIMENTO PUBERAL ANORMAL OU FUNÇÃO GONADAL ALTERADA DE ACORDO COM O SEXO DO PACIENTE

DESENVOLVIMENTO PUBERAL ANORMAL OU FUNÇÃO GONADAL ALTERADA	HOMENS 33 pts	MULHERES 16 pts
Hipogonadismo hipogonadotrófico	0	3
Hipogonadismo Hipergonadotrófico	23	10
Atraso na puberdade/ necessidade de reposição hormonal	4	2
Panhipopituitarismo	6	1

FONTE: O autor (2014)

NOTA: pts: Pacientes.

#### 4.5.2.3 Gestações

Durante o período deste estudo, nenhum paciente do sexo masculino teve filhos biológicos. Das 46 mulheres com idade igual ou superior a 16 anos, seis engravidaram. Duas pacientes engravidaram antes do transplante e destas, uma teve duas gestações normais e a outra teve um aborto espontâneo aos 30 anos de idade evoluindo para uma falência ovariana precoce logo após esta gestação. A descrição das características do transplante e das gestações nas quatro mulheres que engravidaram após os dois anos de transplante encontra-se na Tabela 16:

TABELA 16 - CARACTERÍSTICAS DAS PACIENTES QUE TIVERAM GESTAÇÕES NESTE ESTUDO

ID	IDADE TMO	TIPO DE TRANSPLANTE	CONDICIONAMENTO	IDADE NA GESTAÇÃO	STATUS DO FETO	STATUS MATERNO
ECS	7	Aparentado	CFA 200mg/kg	19	Gestação normal. RN masculino saudável	Viva e bem com 27 anos
RS	10	Não Aparentado	CFA 60mg/kg + FLU + ATG	17	Gestação normal. RN feminino saudável	Viva e bem com 19 anos
MGA	20	Aparentado	CFA 60mg/kg	24	Gestação de seis meses. Feto masculino	Viva e bem
EDP	14	Aparentado	CFA 100mg/kg	19	Aborto espontâneo	Viva e bem com FOP aos 28 anos

FONTE: O autor (2014)

NOTA: CFA: ciclofosfamida; FLU: fludarabina; ATG: globulina anti-timocítica; RN: recém nascido; FOP: Falência Ovariana Precoce.

#### 4.6 OUTRAS COMPLICAÇÕES TARDIAS

Outras complicações foram encontradas após os dois anos de transplante e as mais importantes estão descritas na Tabela 17.

TABELA 17 - COMPLICAÇÕES TARDIAS PÓS-TCTH

COMPLICAÇÕES	DESCRIÇÃO DAS COMPLICAÇÕES ENCONTRADAS	TEMPO APÓS O TCTH (ANOS)
Pulmonares	- Tuberculose Pleural 11 anos pós-TCTH	11
	- Atelectasia total do pulmão esquerdo (adenovirose) com hipoxemia grave e progressiva. Óbito 2,5 anos pós-TCTH	2,5
	- Fibrose pulmonar idiopática: Hipoxemia grave e progressiva com TAC de tórax mostrando comprometimento pleuro-pulmonar difuso. Evoluiu com HP e óbito após 3 anos do início dos sintomas. Diagnóstico histológico de hiperplasia miofibroblástica sub-intersticial e fibrose pulmonar	16
Gastrointestinais	- Mucosite grave, estenose esofágica e gastrostomia com necessidade de dilatações	2
	- Oclusão intestinal por bridas decorrentes de cirurgia prévia por diverticulite	14 anos
Hepáticas	- Hepatite C: 5 pts apresentaram HCV reagente pós-TCTH 1 pt transplantada com HCV reagente e hepatite crônica ativa não teve complicações pós-TCTH (Óbito por rejeição aos 2,5 anos)	5 a 8 anos (M:6)
	- Hepatite B: 1 pt apresentou HbsAg reagente 6 meses pós-TCTH, sem alteração da função hepática até 15 anos pós-transplante	15 anos
Renais	- 5 pts com refluxo vesico-ureteral grave e/ou estenose de uretra pré-existentes apresentaram complicações infecciosas necessitando intervenção cirúrgica e uso prolongado de antibióticos	> 2 anos
	- 1 pt com rim em ferradura apresentou pielonefrites de repetição	8 anos
Neurológicas	- 7 pts com déficit de atenção grave e problemas psiquiátricos que impediram o desenvolvimento normal e necessitaram escola especial e uso de medicações. Na maioria, o quadro piorou a partir da adolescência e 4 destes pacientes apresentaram crises convulsivas de difícil controle que persistiram por mais de dois anos pós-TCTH	> 2 anos
Auditivas	- 15 pts com perda auditiva progressiva que variou de leve a moderada decorrentes de malformações de pavilhão auricular ou conduto auditivo. Sete precisaram de aparelho auditivo e destes, cinco foram encaminhados para escolas especiais por dificuldade de aprendizado	> 2 anos
Oftalmológicas	- 3 pts: perda visual progressiva. Dois pts após cirurgia para correção de ptose palpebral e um pt com história de sangramento em retina pré-TCTH. Todos necessitaram de de escolas especiais	> 2 anos

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas; pts: pacientes; HP: Hipertensão Pulmonar; TAC: Tomografia Axial Computadorizada; HCV: Vírus da Hepatite C.

#### 4.7 CAUSAS DE MORTE

Vinte pacientes morreram entre 2,32 e 19,6 anos (Mediana: 7,7) pós-transplante. As causas de óbito estão relacionadas no Gráfico 7.



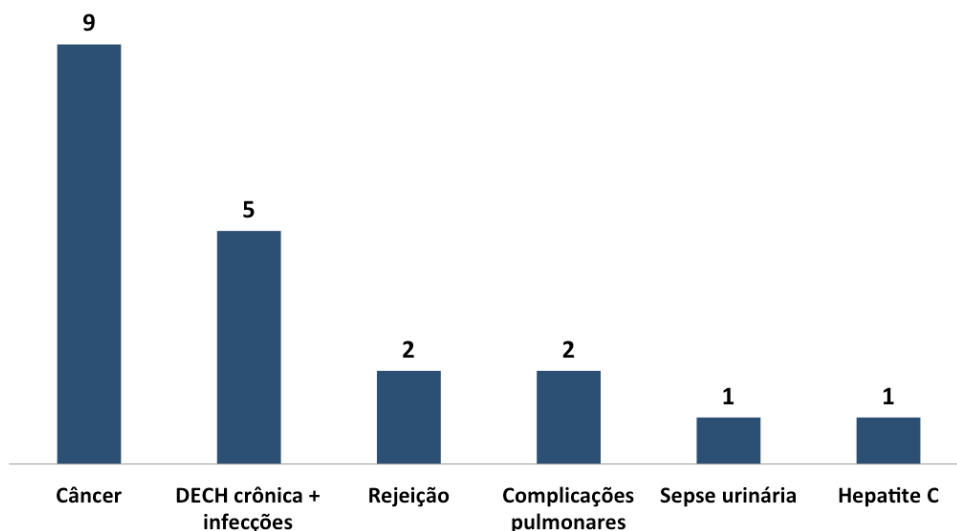


GRÁFICO 7 - NÚMERO DE PACIENTES E CAUSAS DE ÓBITO APÓS DOIS ANOS DE TCTH.

FONTE: O autor (2014)

NOTA: DECH: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro.

A DECH crônica e suas complicações foram as causas mais frequentes de óbito entre dois e cinco anos após o transplante. Após este período o CEC de cavidade oral foi a maior causa de óbito nos pacientes que sobreviveram mais de cinco anos pós-transplante. Na Tabela 18 estão apresentadas as causas de óbito de acordo com a época pós-transplante.

TABELA 18 - CAUSAS DE ÓBITO DE ACORDO COM O PERÍODO PÓS-TCTH

ENTRE 2 E 5 ANOS PÓS-TCTH 8 pts	ENTRE 5 E 10 ANOS PÓS-TCTH 4 pts	APÓS 10 ANOS DO TCTH 8 pts
DECH crônica + infecções: 4 pts	CEC de cavidade oral: 4 pts	DECH- Crônica + Sepse + Insuficiência Renal: 1 pt
Rejeição: 2pts		CEC de cavidade oral: 3 pts
CEC de cavidade oral: 1 pt		Tumor Cerebral: 1 pt
Hemorragia Pulmonar: 1pt		Fibrose Pulmonar + Infecção: 1pt
		Sepse Urinária: 1 pt
		Hepatite C: 1 pt

FONTE: O autor (2014)

NOTA: TCTH: Transplante de células-tronco Hematopoéticas; DECH: Doença do Enxerto contra o Hospedeiro; CEC: Carcinoma Espinocelular.

## 5 DISCUSSÃO

Nas últimas quatro décadas mais de um milhão de pacientes foram submetidos ao TCTH por uma variedade de doenças malignas e não malignas. Desde 1968, quando foi realizado o primeiro transplante com sucesso no mundo, o TCTH passou de uma opção terapêutica reservada para pacientes terminais para um procedimento com grande possibilidade de cura (GRATWOHL *et al.*, 2013; PASQUINI *et al.*, 2013; NEGRIN, 2014).

A redução da intensidade dos regimes de condicionamento foi um marco no TCTH em pacientes com AF e a adição da fludarabina aumentou a probabilidade de pega do enxerto, principalmente nos transplantes que utilizam doadores alternativos. O encaminhamento precoce possibilitou a realização do transplante antes do aparecimento de infecções graves ou do acúmulo de transfusões sanguíneas. O aumento do número de doadores nos registros nacionais e internacionais e os avanços na tipificação do HLA também permitiram a escolha do melhor doador, bem como a melhor fonte de células-tronco hematopoéticas. Todos estes fatores somados aumentaram de maneira espetacular a sobrevida após o transplante na AF (GLUCKMAN; WAGNER, 2008; PEFFAULT DE LATOUR *et al.*, 2013.) No entanto, as complicações tardias pós-transplante ainda são pouco discutidas e geralmente estão descritas dentro de trabalhos gerais (BONFIM *et al.*, 2007; FARZIN *et al.*, 2007; MacMILLAN; WAGNER, 2010; PEFFAULT DE LATOUR *et al.*, 2013).

O presente estudo avaliou as complicações tardias e o seu impacto na sobrevida após dois anos de transplante em 157 pacientes portadores de AF. A maioria dos pacientes recebeu um transplante de medula óssea aparentado compatível em fase de aplasia. Dos 137 pacientes vivos até a data do último contato, 70 tinham uma idade igual ou superior a 18 anos. O seguimento mediano foi de aproximadamente nove anos sendo que 58 pacientes viveram mais do que 10 anos e 23 estão vivos acima de 15 anos pós-transplante. O expressivo número de pacientes acompanhados nesta instituição por um longo período após o TCTH identifica aspectos clínicos e biológicos relevantes que poderão servir de base para estudos futuros no que concerne ao desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Os resultados deste estudo mostram que os pacientes com AF apresentam uma excelente sobrevida aos cinco, 10 e 15 anos pós-transplante de 95%, 90% e 79%. respectivamente.

Infelizmente, apesar da diminuição da mortalidade tardia nos últimos anos, a curva de sobrevida não atingiu um platô e ainda é muito inferior quando comparada àquela encontrada na população geral.

Um recente estudo publicado pelo grupo europeu analisou os dados de 795 pacientes com AF transplantados em 150 centros com uma mediana de seguimento de seis anos. Diferente da casuística do presente estudo, todos os pacientes foram incluídos na análise de sobrevida e não apenas aqueles que sobreviveram mais do que dois anos. A sobrevida no trabalho do grupo europeu foi inferior àquela observada neste estudo com 65% aos cinco anos e 52% aos 15 anos e o seguimento variou de 0 a 28 anos pós-transplante. A idade abaixo de 10 anos, a ausência de evolução para MDS ou LMA, o uso de doadores aparentados compatíveis, a não utilização de radioterapia no regime de condicionamento e a realização do transplante após o ano 2000 estiveram significativamente relacionados a uma melhor sobrevida enquanto que a presença de DECH e o câncer tiveram um impacto negativo (PEFFAULT DE LATOUR *et al.*, 2013). O presente estudo também mostrou uma melhor sobrevida nos pacientes transplantados após 2003 quando comparados àqueles transplantados entre 1988 e 2002 (98% x 69%,  $p = 0.008$ ). Além da época do transplante, a presença de DECH e o desenvolvimento do câncer também tiveram um impacto negativo na sobrevida destes pacientes. Na análise multivariada, a sobrevida não foi afetada por nenhuma outra variável além destas três já mencionadas. Pode ser possível que a inclusão de pacientes restrita aos que viveram mais do que dois anos tenha pré-selecionado aqueles que eram menos graves, mais jovens e que tivessem sido transplantados mais recentemente. A DECH e o câncer estão relacionados a uma menor sobrevida em todos os tipos de transplantes alogênicos, independente do diagnóstico de AF (MAJHAIL *et al.*, 2011; SANDERS *et al.*, 2011; WINGARD *et al.*, 2011; MAJHAIL *et al.*, 2012; PARSONS *et al.*, 2012).

O único trabalho que aborda especificamente as complicações tardias após o transplante na AF foi publicado em 1998 por Socié *et al.* (1998). Este grupo francês analisou a evolução de 50 pacientes transplantados entre 1981 e 1996, no Hospital *Saint Louis* em Paris. Dos 39 pacientes que sobreviveram mais do que dois anos, 32 estavam vivos e 27 tinham uma excelente qualidade de vida. Resultados semelhantes também foram encontrados por Farzin *et al.* mostrando que 29 dos 35 pacientes transplantados apenas com doadores aparentados compatíveis estavam vivos e bem com um seguimento mediano de 10 anos pós-transplante (FARZIN

*et al.*, 2007). A casuística deste presente estudo incluiu um número muito superior de pacientes e os resultados da sobrevida podem ser comparados aos obtidos nestes dois centros internacionais.

No estudo atual, o quimerismo completo ocorreu em 76% dos pacientes avaliados e dos 24% que permaneceram com quimerismo misto, a maioria tinha entre 90 a 95% de células do doador. A importância do quimerismo misto nas doenças não malignas foi amplamente discutido por Svenberg *et al.* (2009). Dos 58 pacientes analisados, metade recebeu regimes de intensidade reduzida e a incidência de quimerismo misto foi significativamente maior neste grupo assim como houve uma menor incidência de DECH aguda grau II e III quando comparada ao grupo de quimerismo completo (SVENBERG *et al.*, 2009). Alguns autores relataram um maior índice de rejeição nos pacientes que apresentavam quimerismo misto (PERRUCHÉ *et al.*, 2006; SUNG; CHAO, 2013), porém os dados observados no estudo atual revelam que a rejeição foi um evento raro após dois anos de transplante ocorrendo em apenas um paciente. A adição de Fludarabina ao regime de condicionamento aumentou de maneira significativa a probabilidade de quimerismo completo conforme identificado em várias publicações (GLUCKMAN *et al.*, 2007; WAGNER *et al.*, 2007; MacMILLAN; WAGNER, 2010). No entanto não se encontrou diferença entre o quimerismo observado nos pacientes que receberam dose alta ou baixa de ciclofosfamida. Este dado não pôde ser comparado com outras publicações já que a redução progressiva da dose de Ciclofosfamida foi realizada apenas em Curitiba e Seattle (ZANIS-NETO *et al.*, 2005; BONFIM *et al.*, 2007). Também não foi observado evolução clonal nos seis pacientes transplantados em fase avançada apesar de dois deles apresentarem quimerismo misto.

A DECH crônica foi outro fator de grande impacto na sobrevida. Ela é uma doença sistêmica que está associada a uma alta morbi-mortalidade e diminuição da qualidade de vida dos pacientes (BAIRD; COOKE; SCHULTZ, 2010; GREINIX *et al.*, 2011). As infecções relacionadas à DECH ou ao seu tratamento são muito frequentes e contribuem direta ou indiretamente para a maioria das complicações não malignas encontradas pós-transplante (BAKER; ARMENIAN; BHATIA, 2010; BAKER; BRESTERS; SANDE, 2010).

Nesta casuística, 55 pacientes tiveram DECH crônica sendo que todos foram diagnosticados antes dos dois anos de transplante e em 40% deles esta complicação foi controlada dentro deste período. Nos pacientes que apresentavam

atividade da doença ou estavam em tratamento para a DECH aos dois anos de transplante, aproximadamente 90% apresentava DECH crônica classificada como moderada ou grave. A maioria apresentou envolvimento da DECH em pelo menos quatro órgãos e necessitou tratamento imunossupressor por uma mediana de seis anos. Este dado também foi encontrado na revisão de Stewart *et al.* (2004). Estes autores observaram que além do envolvimento de vários órgãos na época do diagnóstico, outros fatores como a origem da célula-tronco, o sexo do doador e o grau de incompatibilidade também influenciavam a duração do tratamento imunossupressor (STEWART *et al.*, 2004).

A incidência cumulativa de DECH crônica encontrada no presente estudo foi de 35% aos dois anos. Este número é maior do que os 12% observados por Farzin *et al* após um transplante aparentado compatível (FARZIN *et al.*, 2007). No entanto, ela é similar ou inferior àquela encontrada em trabalhos que incluem doadores não aparentados e outras fontes de células-tronco (SOCIÉ *et al.*, 1998; WAGNER *et al.*, 2007). Também foi observado uma maior incidência de DECH crônica nos pacientes mais velhos, nos que tinham quimerismo completo e naqueles que receberam mais de 20 transfusões prévias. Na revisão de Flowers *et al*, a idade do paciente, a presença de DECH aguda prévia, o uso de um doador do sexo feminino para um receptor masculino e a utilização de doadores não aparentados com incompatibilidade foram associados a uma maior incidência de DECH crônica (FLOWERS *et al.*, 2011).

Nos transplantes em geral, a presença de DECH também tem sido associada com um risco aumentado do desenvolvimento de neoplasias secundárias principalmente o CEC de cabeça e pescoço (CURTIS *et al.*, 2005). Nos pacientes com AF, vários estudos prévios mostraram a forte associação entre a DECH crônica e o aparecimento do CEC (SOCIÉ *et al.*, 1998; GUARDIOLA *et al.*, 2004; ROSENBERG *et al.*, 2005; MASSEROT *et al.*, 2008). Os dados aqui apresentados se assemelham a esta observação, pois oito dos doze pacientes com diagnóstico de CEC de cavidade oral tinham história de DECH crônica prévia ou apresentavam atividade da doença na época do diagnóstico. Estes pacientes desenvolveram o câncer numa idade mais jovem (Mediana de 16 anos) e num período mais precoce após o transplante (Mediana de 5,5 anos).

Além da DECH crônica, a utilização de radioterapia no regime de condicionamento também está relacionada a um risco aumentado do CEC (ROSENBERG *et al.*, 2005; MASSEROT *et al.*, 2008). Atualmente existe uma forte tendência de evitar a

radioterapia, não apenas pelo risco aumentado de câncer como também pela falta de evidência de que este tratamento aumente a sobrevida dos pacientes (ROSENBERG *et al.*, 2005; PASQUINI *et al.*, 2009; MacMILLAN; WAGNER, 2010). Doses baixas de irradiação foram utilizadas em seis pacientes deste estudo e todos estão vivos entre três e 13 anos pós-transplante sendo que nenhum paciente deste grupo desenvolveu câncer até a data do último contato.

Os resultados deste estudo também apontam para o fato que quatro dos 12 pacientes que desenvolveram CEC de cavidade oral nunca tiveram DECH crônica nem receberam radioterapia, demonstrando claramente que esta complicação pode ocorrer mesmo na ausência destes fatores de risco. Neste grupo de pacientes o diagnóstico de câncer ocorreu após 10 anos de transplante numa idade entre 18 e 30 anos.

Nos doze pacientes com CEC, a idade mediana do diagnóstico foi de 18 anos e isto contrasta com a idade de 31 anos encontrada em dois importantes trabalhos (KUTLER *et al.*, 2003; MASSEROT *et al.*, 2008). Como estes pacientes não receberam radioterapia e poucos faziam parte de grupos de risco para o desenvolvimento de CEC de cabeça e pescoço, é possível especular que características distintas da microbiota bucal possam ter exercido um papel importante na progressão do câncer (MATTIOLI *et al.*, 2010; DE ARAUJO *et al.*, 2011; LYKO *et al.*, 2013).

Assim como em outros trabalhos já publicados, a maioria dos pacientes neste estudo também foi diagnosticada numa fase avançada do CEC e a língua foi acometida em 80% dos casos (KUTLER *et al.*, 2003; ROSENBERG *et al.*, 2005; MASSEROT *et al.*, 2008). A cirurgia foi utilizada como tratamento de primeira linha em 10 dos 12 pacientes, mesmo assim a recidiva e progressão da doença ocorreu em 75% dos casos. A toxicidade gastrointestinal e cutânea foi muito importante nos poucos pacientes que receberam quimioterapia ou radioterapia durante a recidiva do CEC. Esta toxicidade também foi encontrada na análise de 12 pacientes descritos por Birkeland *et al.* (2011). Estes autores demonstraram que a radioterapia foi pouco tolerada mesmo em doses consideradas baixas e a associação com a quimioterapia resultou num aumento substancial das complicações incluindo a interrupção do tratamento em dois pacientes (BIRKELAND *et al.*, 2011).

Atualmente o câncer é considerado a maior causa de óbito neste grupo de pacientes, independente da realização ou não do transplante (van ZEEBURG *et al.*, 2008). No presente estudo, o câncer também foi a causa mais frequente de morte

após dois anos de transplante ocorrendo em oito dos 20 pacientes, seguido pela DECH crônica e suas complicações em 30% dos casos.

Um outro aspecto muito significativo deste estudo foi a frequência das complicações endocrinológicas. Os dados de literatura confirmam estes achados e mostram que aproximadamente 80% das crianças e adultos com AF têm pelo menos uma anormalidade endocrinológica identificada (WAJNRAJCH *et al.*, 2001; GIRI *et al.*, 2007; AUERBACH, 2009; ROSE *et al.*, 2012; FORLENZA *et al.*, 2014).

Como a mediana de idade na época do transplante foi de 8 anos, a maioria dos pacientes (82,4%) foi transplantada em fase pré-púbere. Nos pacientes avaliáveis, o hipogonadismo foi o achado mais frequente sendo diagnosticado em 29% das mulheres e 57% dos homens. A incidência geral foi de 40%, igual àquela descrita por Rose *et al.* (2012). Vale ressaltar que estes autores avaliaram apenas 42 pacientes adultos e incluíram tanto pacientes transplantados como não transplantados enquanto que o presente estudo incluiu 75 pacientes adultos e todos transplantados (ROSE *et al.*, 2012).

A diminuição da fertilidade também é frequente nos pacientes com AF (AUERBACH, 2009; SKLAVOS *et al.*, 2014). No estudo atual, 46 mulheres atingiram uma idade fértil sendo que seis engravidaram e quatro tiveram gestações normais (Mediana de idade de 22 anos). Estes dados são semelhantes aqueles relatados por Nabhan *et al.* e demonstram que a gravidez nas mulheres jovens com AF pode ocorrer normalmente (NABHAN *et al.*, 2010).

Assim como em todos os trabalhos publicados, a infertilidade masculina é muito mais marcante e não há relatos recentes de pacientes do sexo masculino que tenham sido pais (AUERBACH, 2009). No presente estudo também não foi identificado nenhum paciente adulto, do sexo masculino que teve filhos.

Estudos prévios também demonstram que a função tireoidiana pode estar alterada em 37 a 60% dos pacientes com AF sendo comum encontrar valores de T4L próximos do limite inferior da normalidade e TSH > 3mU/L (GIRI *et al.*, 2007; EYAL *et al.*, 2008; ROSE *et al.*, 2012). No presente estudo, aproximadamente 90% dos pacientes realizaram pelo menos um teste de função tireoidiana durante o seu acompanhamento e a incidência de hipotireoidismo de 25% foi menor do que aquela observada por outros autores. Esta menor incidência pode ser decorrente da definição de hipotireoidismo aqui utilizada e da irregularidade com que estes exames foram solicitados entre 1988 e 2011.

Outros achados menos frequentes também foram descritos como, por exemplo, as alterações auditivas, visuais e neurológicas. Estas complicações não influenciaram diretamente a sobrevida, mas tiveram um impacto negativo na qualidade de vida destes pacientes. É importante lembrar que o TCTH cura apenas as anormalidades hematológicas dos pacientes com AF. Todas as outras complicações relacionadas à própria doença persistem indefinidamente e podem ser exacerbadas com o procedimento do transplante enfatizando a necessidade de um acompanhamento regular e especializado por toda a vida.

A sobrevida dos pacientes com AF após o transplante melhorou nos últimos 10 anos e a maioria dos pacientes tem uma vida normal e estão curados do ponto de vista hematológico. O número de adultos vivos (70 pacientes) realça a importância deste trabalho já que a maioria das publicações contém poucos pacientes nesta faixa etária. No entanto, assim como em todos os outros transplantes alogênicos é necessário estar atento às complicações relacionadas à DECH crônica e à imunodeficiência associada a esta complicação. Sabe-se que a presença da DECH está diretamente relacionada a uma menor qualidade de vida e que as estratégias utilizadas para reduzir esta complicação poderão diminuir de maneira significativa o risco de câncer.

Apesar da DECH ainda ser uma complicação muito encontrada após o transplante, alguns passos já foram dados em relação aos transplantes realizados nos pacientes com AF. Atualmente, os pacientes acima de 11 anos já recebem globulina anti-timocítica no regime de condicionamento mesmo que tenham doadores aparentados totalmente compatíveis. Isto é realizado com o objetivo de reduzir a incidência da DECH aguda e crônica. O *screening* do CEC de cavidade oral é feito de maneira regular e sistemática com o apoio do Grupo de Odontologia da UFPR, coordenados pelo Professor Doutor Cassius Torres-Pereira. A realização de toda a avaliação endocrinológica é regularmente feita em conjunto com a Unidade de Endocrinologia Pediátrica do Departamento de Pediatria do HC-UFPR e inclui não apenas a documentação detalhada da puberdade e da função tireoidiana como também a análise do crescimento, do metabolismo da glicose, lipídios, vitamina D e metabolismo ósseo. Além do desenvolvimento de várias especialidades nesta área, o estabelecimento de parcerias com outros grupos nacionais e internacionais também serão essenciais para a realização de várias pesquisas na AF.



A experiência acumulada no STMO do HC-UFPR em mais de trezentos transplantes na AF constitui uma grande riqueza de dados. Esta experiência única, poderá contribuir para aumentar os conhecimentos da biologia da doença e para o surgimento de estratégias terapêuticas que visem aperfeiçoar a atenção global e continuar com a missão de transpor todas as barreiras que impeçam o bem estar destes pacientes.

A educação dos pacientes com AF e de seus familiares sobre as características da doença, eventuais limitações e prevenção de complicações futuras é uma das maiores prioridades do STMO do HC-UFPR. Estes objetivos conduziram para a realização de três encontros nacionais direcionados especificamente para os pacientes e famílias com AF onde foram discutidas as complicações mais frequentes da doença. Estes encontros reuniram mais de 100 pacientes em cada um dos três eventos e neles foram realizadas apresentações sobre os fatores de risco para o câncer e orientações sobre como realizar uma inspeção adequada da cavidade oral (FURQUIM *et al.*, 2014).

A análise das complicações tardias encontradas após o transplante neste grande grupo de pacientes com AF levou ao desenvolvimento de estratégias que poderão ter um benefício direto na vida dos pacientes, tanto a curto quanto em longo prazo. A prevenção do câncer através da diminuição de exposição aos fatores de risco já conhecidos, a utilização de métodos não invasivos para o *screening* de lesões pré-malignas, o diagnóstico precoce dos tumores e o desenvolvimento de novos agentes quimioterápicos que tenham menor toxicidade serão essenciais para que a sobrevida destes pacientes se aproxime, um dia, àquela observada na população geral.

## 6 CONCLUSÕES

1. A probabilidade de sobrevida dos 157 pacientes com AF que viveram mais do que dois anos pós-transplante foi de 95% aos cinco anos, 90% aos 10 anos e 79% aos 15 anos. A sobrevida foi influenciada de maneira negativa pela realização do transplante antes de 2003, pela presença da DECH crônica e pelo aparecimento do CEC. O seguimento destes pacientes variou de 2,05 a 25,4 anos com uma mediana de 8,7 anos.
2. O quimerismo completo foi detectado em 76% dos pacientes avaliáveis e o quimerismo misto menor do que 90% estava presente em oito pacientes (5%). A rejeição ocorreu em apenas um paciente após os dois anos de transplante.
3. A incidência cumulativa de DECH crônica aos dois anos foi de 35%. A maioria dos pacientes que apresentavam DECH crônica em atividade aos dois anos tinham uma DECH considerada grave com envolvimento de pelo menos quatro órgãos. Em todo o grupo, a DECH crônica foi mais frequente nos pacientes que tinham idade acima de 11 anos, naqueles com quimerismo completo e nos pacientes que haviam recebido mais do que 20 transfusões prévias.
4. A incidência cumulativa do CEC de cavidade oral foi de 8% aos 10 anos e de 14% aos 15 anos pós-TCTH. Os pacientes com DECH crônica desenvolveram o CEC de cavidade oral numa idade mais jovem e numa fase mais precoce pós-TCTH do que os pts sem DECH crônica. A presença do CEC esteve associada a um risco muito elevado de morte.
5. As complicações endocrinológicas foram muito frequentes sendo o hipotireoidismo detectado em 25% e o hipogonadismo em 40%. Outras complicações neurológicas, auditivas, visuais, pulmonares, hepáticas e renais relacionadas ao procedimento do transplante ou à doença básica também foram descritas em menor frequência.

6. A causa mais frequente de óbito após os dois anos de transplante foi o CEC de cavidade oral seguida pela DECH crônica e suas complicações infecciosas.

## REFERÊNCIAS

ALTER, B. P. Cancer in Fanconi Anemia, 1927-2001. **Cancer**, v.97, n.2, p.425-440, 2003.

ALTER, B. P.; GIRI, N.; PAN, Y.; SAVAGE, S. A.; PINTO, L. A. Antibody Response to Human Papillomavirus Vaccine In Subjects With Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. **Vaccine**, v.32, n.10, p.1169-1173, 2014.

APOSTOLOU, S.; WHITMORE, S. A.; CRAWFORD, J.; LENNON, G.; SUTHERLAND, G. R.; CALLEN, D. F.; IANZANO, L.; SAVINO, M.; D'APOLITO, M.; NOTARANGELO, A.; MEMEO, E.; PIEMONTESE, M. R.; ZELANTE, L.; SAVINO, A.; GIBSON, R. A.; TIPPING, A. J.; MORGAN, N. V.; HASSOCK, S.; JANSEN, S.; DE RAVEL, T. J.; VAN BERKEL, C.; PRONK, J. C.; EASTON, D. F.; MATHEW, C. G.; LEVRAN, O.; VERLANDER, P. C.; BATISH, S. D.; ERLICH, T. E.; AUERBACH, A. D.; CLETON-JANSEN, A. M.; MOERLAND, E. W.; CORNELISSE, C. J.; DOGGETT, N. A.; DEAVEN, L. L.; MOYZIS, R. K. Positional Cloning Of The Fanconi Anaemia Group A Gene. **Nature Genetics**, v.14, n.3, p.324-328, 1996.

AUERBACH, A. D. Fanconi Anemia Diagnosis And The Diepoxybutane (Deb) Test. **Experimental Hematology**, v.21, n.6, p.731-733, 1993.

AUERBACH, A. D. Fanconi Anemia And Its Diagnosis. **Mutation Research**, v.668, n.1-2, p.4-10, 2009.

AUERBACH, A. D.; GREENBAUM, J.; PUJARA, K.; BATISH, S. D.; BITENCOURT, M. A.; KOKEMOHR, I.; SCHNEIDER, H.; LOBITZC, S.; PASQUINI, R.; GIAMPIETRO, P. F.; HANENBERG, H.; LEVRAN, O.; INTERNATIONAL FANCONI ANEMIA REGISTRY. Spectrum of sequence variation in the FANCG gene: an International Fanconi Anemia Registry (IFAR) study. **Human Mutation**, v.21, n.2, p.158-168, 2003.

AUERBACH, A. D.; ROGATKO, A.; SCHROEDER-KURTH, T. M. International Fanconi Anemia Registry: Relation Of Clinical Symptoms To Diepoxybutane Sensitivity. **Blood**, v.73, n.2, 391-396, 1989.

AYAS, M.; AL-JEFRI, A.; AL-SERAIHI, A.; AL-MAHR, M.; RIFAI, S.; AL-AHMARI, A.; KHAIRY, A.; EL-HASSAN, I.; EL-SOLH, H. Allogeneic Stem Cell Transplantation In Fanconi Anemia Patients Presenting With Myelodysplasia And/Or Clonal Abnormality: Update On The Saudi Experience. **Bone Marrow Transplantation**, v.41, n.3, p.261-265, 2008.

BAIRD, K.; COOKE, K.; SCHULTZ, K. R. Chronic Graft-Versus-Host Disease (Gvhd) In Children. **Pediatric Clinics Of North America**, v.57, n.1, p.297-322, 2010.

BAKER, K. S.; ARMENIAN, S.; BHATIA, S. Long-term consequences of hematopoietic stem cell transplantation: current state of the science. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.16, 1 Suppl, p.S90-96, 2010.

BAKER, K. S.; BRESTERS, D.; SANDE, J. E. The Burden Of Cure: Long-Term Side Effects Following Hematopoietic Stem Cell Transplantation (Hsct) In Children. **Pediatric Clinics Of North America**, v.57, n.1, p.323-342, 2010.

BECKER, P. S.; TAYLOR, J. A.; TROBRIDGE, G. D.; ZHAO, X.; BEARD, B. C.; CHIEN, S.; ADAIR, J.; KOHN, D. B.; WAGNER, J. E.; SHIMAMURA, A.; KIEM, H. P. KIEM, H.-P. Preclinical Correction Of Human Fanconi Anemia Complementation Group A Bone Marrow Cells Using A Safety-Modified Lentiviral Vector. **Gene Therapy**, v.17, n.10, 1244-1252, 2010.

BESSLER, M.; MASON, P. J.; LINK, D. C.; WILSON, D. B. Inherited Bone Marrow Failures. In: ORKIN, S. H.; NATHAN, D. G.; GINSBURG, D.; LOOK, A. T.; FISHER, D. E.; LUX, S. E. (Eds.). **Hematology of Infancy and Childhood**. 7th ed. Philadelphia: Saunders, 2009. p.313.

BHATIA, S. Long-Term Health Impacts Of Hematopoietic Stem Cell Transplantation Inform Recommendations For Follow-Up. **Expert Review Of Hematology**, v.4, n.4, p.437-452, 2011.

BHATIA, S., FRANCISCO, L., CARTER, A., SUN, C.-L., BAKER, K. S., GURNEY, J. G.; McGLAVE, P. B.; NADEMANEE, A.; O'DONNELL, M.; RAMSAY, N. K.; ROBISON, L. L.; SNYDER, D.; STEIN, A.; FORMAN, S. J.; WEISDORF, D. J.; WEISDORF, D. J. Late Mortality After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation And Functional Status Of Long-Term Survivors: Report From The Bone Marrow Transplant Survivor Study. **Blood**, v.110, p.3784-3792, 2007.

BIRKELAND, A. C.; AUERBACH, A. D.; SANBORN, E.; PARASHAR, B.; KUHEL, W. I.; CHANDRASEKHARAPPA, S. C.; SMOGORZEWSKA, A.; KUTLER, D. I. Postoperative Clinical Radiosensitivity In Patients With Fanconi Anemia And Head And Neck Squamous Cell Carcinoma. **Archives Of Otolaryngology Head & Neck Surgery**, v.137, n.9, p.930-934, 2011.

BONFIM, C. M.; de MEDEIROS, C. R.; BITENCOURT, M. A.; ZANIS-NETO, J.; FUNKE, V. A.; SETUBAL, D. C.; RUIZ, J.; SANDERS, J. E.; FLOWERS, M. E.; KIEM H. P.; STORB, R.; PASQUINI, R. HLA-matched related donor hematopoietic cell transplantation in 43 patients with Fanconi anemia conditioned with 60 mg/kg of cyclophosphamide. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.13, n.12, p.1455-1460, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **TNM**: classificação de tumores malignos. Tradução de Ana Lúcia Amaral Eisenberg. 6.ed. Rio de Janeiro: INCA, 2004.

BREMER, M.; SCHINDLER, D.; GROSS, M.; DÖRK, T.; MORLOT, S.; KARSTENS, J. H. Fanconi's anemia and clinical radiosensitivity report on two adult patients with locally advanced solid tumors treated by radiotherapy. **Strahlentherapie Und Onkologie**, v.179, n.11, p.748-753, 2003.

BRENTA, G.; VAISMAN, M.; SGARBI, J. A.; BERGOGLIO, L. M.; ANDRADA, N. C.; BRAVO, P. P.; ORLANDI, A. M.; GRAF, H.; TASK FORCE ON HYPOTHYROIDISM OF THE LATIN AMERICAN THYROID SOCIETY (LATS). Clinical practice guidelines for the management of hypothyroidism. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.57, n.4, p.265-291, 2013.

CAHN, J. Y.; KLEIN, J. P.; LEE, S. J.; MILPIED, N.; BLAISE, D.; ANTIN, J. H.; LEBLOND, V.; IFRAH, N.; JOUET, J. P.; LOBERIZA, F.; RINGDEN, O.; BARRETT, A. J.; HOROWITZ, M. M.; SOCIÉ, G.; SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE GREFFE DE MOËLLE ET THÉRAPIE CELLULAIRE; DANA FARBER CANCER INSTITUTE; INTERNATIONAL BONE MARROW TRANSPLANT REGISTRY. Prospective evaluation of 2 acute graft-versus-host (GVHD) grading systems: a joint Société Française de Greffe de Moëlle et Thérapie Cellulaire (SFGM-TC), Dana Farber Cancer Institute (DFCI), and International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) prospective study. **Blood**, v.106, n.4, p.1495-1500, 2005.

CARVALHO, M. S.; ANDREOZZI, V. L.; CODEÇO, C. T.; BARBOSA, M. T. S.; SHIMAKURA, S. E. **Análise de sobrevida**: teoria e aplicações em saúde. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2005.

CASTELLA, M.; PUJOL, R.; CALLÉN, E.; RAMÍREZ, M. J.; CASADO, J. A.; TALAVERA, M.; FERRO, T.; MUÑOZ, A.; SEVILLA, J.; MADERO, L.; CELA, E.; BELÉNDEZ, C.; DE HEREDIA, C. D.; OLIVÉ, T.; DE TOLEDO, J. S.; BADELL, I.; ESTELLA, J.; DASÍ, Á.; RODRÍGUEZ-VILLA, A.; GÓMEZ, P.; TAPIA, M.; MOLINÉS, A.; FIGUERA, Á.; BUEREN, J. A.; SURRALLÉS, J. Chromosome fragility in patients with Fanconi anaemia: diagnostic implications and clinical impact. **Journal of Medical Genetics**, v.48, n.4, p.242-50, 2011a.

CASTELLA, M.; PUJOL, R.; CALLÉN, E.; TRUJILLO, J. P.; CASADO, J. A.; GILLE, H.; LACH, F. P.; AUERBACH, A. D.; SCHINDLER, D.; BENÍTEZ, J.; PORTO, B.; FERRO, T.; MUÑOZ, A.; SEVILLA, J.; MADERO, L.; CELA, E.; BELÉNDEZ, C.; DE HEREDIA, C. D.; OLIVÉ, T.; DE TOLEDO, J. S.; BADELL, I.; TORRENT, M.; ESTELLA, J.; DASÍ, A.; RODRÍGUEZ-VILLA, A.; GÓMEZ, P.; BARBOT, J.; TAPIA, M.; MOLINÉS, A.; FIGUERA, A.; BUEREN, J. A.; SURRALLÉS, J. Origin, functional role, and clinical impact of Fanconi anemia FANCA mutations. **Blood**, v.117, n.14, p.3759-3769, 2011b.

CIOC, A. M.; WAGNER, J. E.; MacMILLAN, M. L.; DEFOR, T.; HIRSCH, B. Diagnosis of myelodysplastic syndrome among a cohort of 119 patients with fanconi anemia: morphologic and cytogenetic characteristics. **American Journal of Clinical Pathology**, v.133, n.1, p.92-100, 2010.

COHEN, A.; BÉKÁSSY, A. N.; GAIERO, A.; FARACI, M.; ZECCA, S.; TICHELLI, A.; DINI, G. Endocrinological late complications after hematopoietic SCT in children. **Bone Marrow Transplantation**, v.41, Suppl 2, p.S43-48, 2008.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de sobrevivência aplicada**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

CROSSAN, G. P.; PATEL, K. J. The Fanconi anaemia pathway orchestrates incisions at sites of crosslinked DNA. **The Journal of Pathology**, v.226, n.2, p.326-337, 2012.

CURTIS, R. E.; METAYER, C.; RIZZO, J. D.; SOCIÉ, G.; SOBOCINSKI, K. A.; FLOWERS, M. E.; TRAVIS, W. D.; TRAVIS, L. B.; HOROWITZ, M. M.; DEEG, H. J. Impact of chronic GVHD therapy on the development of squamous-cell cancers after hematopoietic stem-cell transplantation: an international case-control study, **Blood**, v.105, n.10, p.3802-3811, 2005.

DAHLLÖF, G.; HINGORANI, S. R.; SANDERS, J. E. Late effects following hematopoietic cell transplantation for children. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.14, 1 Suppl 1, p.88-93, 2008.

D'ANDREA, A. BRCA1: A missing link in the Fanconi Anemia/BRCA pathway. **Cancer Discovery**, v.3, n.4, p.376-378, 2013.

DE ARAUJO, M. R.; RUBIRA-BULLEN, I. R.; SANTOS, C. F.; DIONÍSIO, T. J.; BONFIM, C. M.; DE MARCO, L.; GILLIO-TOS, A.; MERLETTI, F. High prevalence of oral human papillomavirus infection in Fanconi's anemia patients. **Oral Diseases**, v.17, n.6, p.572-576, 2011.

DE MEDEIROS, C. R.; BITENCOURT, M. A.; ZANIS-NETO, J.; MALUF, E. C.; CARVALHO, D. S.; BONFIM, C. S.; FUNKE, V. M.; SETUBAL, D. C.; FARAH, N.; PASQUINI, R. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from an alternative stem cell source in Fanconi anemia patients: analysis of 47 patients from a single institution. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.39, n.10, p.1297-1304, 2006.

DEMUTH, I.; WLODARSKI, M.; TIPPING, A. J.; MORGAN, N. V.; DE WINTER, J. P.; THIEL, M.; GRÄSL, S.; SCHINDLER, D.; D'ANDREA, A. D.; ALTAY, C.; KAYSERILI, H.; ZATTERALE, A.; KUNZE, J.; EBELL, W.; MATHEW, C. G.; JOENJE, H.; SPERLING, K.; DIGWEED, M. Spectrum of mutations in the Fanconi anaemia group G gene, FANCG/XRCC9. **European Journal of Human Genetics**, v.8, n.11, p.861-868, 2000.

DUFOUR, C.; SVAHN, J. Fanconi anaemia: new strategies. **Bone Marrow Transplantation**, v.41, Suppl 2, p.S90-95, 2008.

EYAL, O.; BLUM, S.; MUELLER, R.; SMITH, F. O.; ROSE, S. R. Improved growth velocity during thyroid hormone therapy in children with Fanconi Anemia and borderline thyroid function. **Pediatric Blood & Cancer**, v.51, n.5, p.652-656, 2008.

FANCONI, G. Familial constitutional panmyelocytopenia, Fanconi's anemia (F.A.). I. Clinical aspects. **Seminars in Hematology**, v.4, n.3, p.233-240, 1967.

FARZIN, A.; DAVIES, S. M.; SMITH, F. O.; FILIPOVICH, A.; HANSEN, M.; AUERBACH, A. D.; HARRIS, R. E. Matched sibling donor haematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anaemia: An update of the Cincinnati Children's experience. **British Journal of Haematology**, v.136, n.4, p.633-640, 2007.

FERREIRA, E.; DULLEY, F. L.; MORSOLETO, F.; NETO, J. Z.; PASQUINI, R. Bone marrow transplantation in Brazil. **Human Immunology**, v.14, n.3, p.324-232, 1985.

FILIPOVICH, A. H.; WEISDORF, D.; PAVLETIC, S.; SOCIE, G.; WINGARD, J. R.; LEE, S. J.; MARTIN, P.; CHIEN, J.; PRZEPIORKA, D.; COURIEL, D.; COWEN, E. W.; DINNDORF, P.; FARRELL, A.; HARTZMAN, R.; HENSLEE-DOWNEY, J.; JACOBSON, D.; McDONALD, G.; MITTLEMAN, B.; RIZZO, J. D.; ROBINSON, M.; SCHUBERT, M.; SCHULTZ, K.; SHULMAN, H.; TURNER, M.; VOGELSANG, G.; FLOWERS, M. E. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. Diagnosis and staging working group report. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.11, n.12, p.945-956, 2005.

FLOWERS, M. E.; INAMOTO, Y.; CARPENTER, P. A.; LEE, S. J.; KIEM, H. P.; PETERSDORF, E. W.; PEREIRA, S. E.; NASH, R. A.; MIELCAREK, M.; FERRO, M. L.; WARREN, E. H.; SANDERS, J. E.; STORB, R. F.; APPELBAUM, F. R.; STORER, B. E.; MARTIN, P. J. Comparative analysis of risk factors for acute graft-versus-host disease and for chronic graft-versus-host disease according to National Institutes of Health consensus criteria. **Blood**, v.117, n.11, p.3214-3219, 2011.



FORLENZA, G. P.; POLGREEN, L. E.; MILLER, B. S.; MacMILLAN, M. L.; WAGNER, J. E.; PETRYK, A. Growth hormone treatment of patients with Fanconi anemia after hematopoietic cell transplantation. **Pediatric Blood & Cancer**, v.61, n.6, 1142-1143, 2014.

FURQUIM, C. P.; PIVOVAR, A.; CAVALCANTI, L. G.; ARAÚJO, R. F.; BONFIM, C.; TORRES-PEREIRA, C. C. Mouth self-examination as a screening tool for oral cancer in a high-risk group of patients with Fanconi anemia. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v.118, n.4, p.440-446, 2014.

GARAYCOECHEA, J. I.; CROSSAN, G. P.; LANGEVIN, F.; DALY, M.; ARENDS, M. J.; PATEL, K. J. Genotoxic consequences of endogenous aldehydes on mouse haematopoietic stem cell function. **Nature**, v.489, n.7417, p.571-575, 2012.

GARAYCOECHEA, J. I.; PATEL, K. J. Why does the bone marrow fail in Fanconi anemia? **Blood**, v.123, n.1, p.26-34, 2014.

GIBSON, R. A.; MORGAN, N. V.; GOLDSTEIN, L. H.; PEARSON, I. C.; KESTERTON, I. P.; FOOT, N. J.; JANSEN, S.; HAVENGA, C.; PEARSON, T.; DE RAVEL, T. J.; COHN, R. J.; MARQUES, I. M.; DOKAL, I.; ROBERTS, I.; MARSH, J.; BALL, S.; MILNER, R. D.; LLERENA JR, J. C.; SAMOCHATOVA, E.; MOHAN, S. P.; VASUDEVAN, P.; BIRJANDI, F.; HAJIANPOUR, A.; MURER-ORLANDO, M.; MATHEW, C. G. Novel mutations and polymorphisms in the Fanconi anemia group C gene. **Human Mutation**, v.8, n.2, p.140-148, 1996.

GIRI, N.; BATISTA, D. L.; ALTER, B. P.; STRATAKIS, C. A. Endocrine abnormalities in patients with Fanconi anemia. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.92, n.7, p.2624-2631, 2007.

GLUCKMAN, E.; AUERBACH, A. D.; HOROWITZ, M. M.; SOBOCINSKI, K. A.; ASH, R. C.; BORTIN, M. M.; BUTTURINI, A.; CAMITTA, B. M.; CHAMPLIN, R. E.; FRIEDRICH, W.; GOOD, R. A.; GORDON-SMITH, E. C.; HARRIS, R. E.; KLEIN, J. P.; ORTEGA, J. J.; PASQUINI, R.; RAMSAY, N. K.; SPECK, B.; VOWELS, M. R.; ZHANG, M. J.; GALE, R. P. Bone marrow transplantation for Fanconi anemia. **Blood**, v.86, n.7, p.2856-2862, 1995.

GLUCKMAN, E.; ROCHA, V.; IONESCU, I.; BIERINGS, M.; HARRIS, R. E.; WAGNER, J.; KURTZBERG, J.; CHAMPAGNE, M. A.; BONFIM, C.; BITTENCOURT, M.; DARBYSHIRE, P.; FERNANDEZ, M. N.; LOCATELLI, F.; PASQUINI, R.; EUROCORD-NETCORD AND EBMT. Results of Unrelated Cord Blood Transplant in Fanconi Anemia Patients: Risk Factor Analysis for Engraftment and Survival. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.13, n.9, p.1073-1082, 2007.

GLUCKMAN, E.; WAGNER, J. E. Hematopoietic stem cell transplantation in childhood inherited bone marrow failure syndrome. **Bone Marrow Transplantation**, v.41, n.2, p.127-132, 2008.

GRATWOHL, A.; BALDOMERO, H.; GRATWOHL, M.; ALJURF, M.; BOUZAS, L. F.; HOROWITZ, M.; KODERA, Y.; LIPTON, J.; IIDA, M.; PASQUINI, M. C.; PASSWEG, J.; SZER, J.; MADRIGAL, A.; FRAUENDORFER, K.; NIEDERWIESER, D.; WORLDWIDE NETWORK OF BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION (WBMT). Quantitative and qualitative differences in use and trends of hematopoietic stem cell transplantation: a Global Observational Study. **Haematologica**, v.98, n.8, p.1282-1290, 2013.

GREEN, A. M.; KUPFER, G. M. Fanconi anemia. **Hematology Oncology Clinics of North America**, v.23, n.2, p.193-214, 2009.

GREINIX, H. T.; LODDENKEMPER, C.; PAVLETIC, S. Z.; HOLLER, E.; SOCIÉ, G.; LAWITSCHKA, A.; HALTER, J.; WOLFF, D. Diagnosis and staging of chronic graft-versus-host disease in the clinical practice. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.17, p.167-175, 2011.

GUARDIOLA, P.; PASQUINI, R.; DOKAL, I.; ORTEGA, J. J.; VAN WEEL-SIPMAN, M.; MARSH, J. C.; BALL, S. E.; LOCATELLI, F.; VERMYLEN, C.; SKINNER, R.; LJUNGMAN, P.; MINIERO, R.; SHAW, P. J.; SOUILLET, G.; MICHALLET, M.; BEKASSY, A. N.; KRIVAN, G.; DI BARTOLOMEO, P.; HEILMANN, C.; ZANESCO, L.; CAHN, J. Y.; ARCESE, W.; BACIGALUPO, A.; GLUCKMAN, E. Outcome of 69 Allogeneic Stem Cell Transplantation for Fanconi Anemia using HLA-matched Unrelated Donors: A study on behalf of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Blood**, v.95, n.2, p.422-429, 2000.

GUARDIOLA, P.; SOCIÉ, G.; LI, X.; RIBAUD, P.; DEVERGIE, A.; ESPÉROU, H.; RICHARD, P.; TRAINEAU, R.; JANIN, A.; GLUCKMAN, E. Acute graft-versus-host disease in patients with Fanconi anemia or acquired aplastic anemia undergoing bone marrow transplantation from HLA-identical sibling donors: risk factors and influence on outcome. **Blood**, v.103, n.1, 73-77, 2004.

HADDAD, R. I.; SHIN, D. M. Recent advances in head and neck cancer. **The New England Journal of Medicine**, v.359, n.11, p.1143-1154, 2008.

HASHMI, S.; CARPENTER, P.; KHERA, N.; TICHELLI, A.; & SAVANI, B. N. Lost in Transition: The Essential Need for Long-Term Follow-Up Clinic for Blood and Marrow Transplantation Survivors. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, p.1-8, 2014.

HOFFMEISTER, P. A.; HINGORANI, S. R.; STORER, B. E.; BAKER, K. S.; SANDERS, J. E. Hypertension in long-term survivors of pediatric hematopoietic cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.16, n.4, p.515-524, 2010.

JOENJE, H. Metabolism: alcohol, DNA and disease. **Nature**, v.475, n.7354, p.45-46, 2011.

KEE, Y.; D'ANDREA, A. D. Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi anemia. **The Journal of Clinical Investigation**, v.122, n.11, p.3799-3806, 2012.

KUPFER, G. M. Fanconi anemia: a signal transduction and DNA repair pathway. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v.86, n.4, p.491-497, 2013.

KUPST, M. J.; PENATI, B.; DEBBAN, B.; CAMITTA, B.; PIETRYGA, D.; MARGOLIS, D.; MURRAY, K.; CASPER, J. Cognitive and psychosocial functioning of pediatric hematopoietic stem cell transplant patients: a prospective longitudinal study. **Bone Marrow Transplantation**, v.30, p.609-617, 2002.

KUTLER, D. I.; AUERBACH, A. D.; SATAGOPAN, J.; GIAMPIETRO, P. F.; BATISH, S. D.; HUVOS, A. G.; GOBERDHAN, A.; SHAH, J. P.; SINGH, B. High incidence of head and neck squamous cell carcinoma in patients with Fanconi anemia. **Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery**, v.129, n.1, p.106-112, 2003.

LEVRAN, O.; ERLICH, T.; MAGDALENA, N.; GREGORY, J. J.; BATISH, S. D.; VERLANDER, P. C.; AUERBACH, A. D. Sequence variation in the Fanconi anemia gene FA-A. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.94, n.24, p.13051-13056, 1997.

LOBITZ, S.; VELLEUER, E. Guido Fanconi (1892-1979): A Jack of all trades. **Nature Reviews Cancer**, v.6, n.11, 893-898, 2006.

LYKO, K.; BONFIM, C.; BENELLI, E. M.; TORRES-PEREIRA, C. C.; AMENÁBAR, J. M. Salivary detection of periodontopathic bacteria in Fanconi's anemia patients. **Anaerobe**, v.24, p.32-35, 2013.

MacMILLAN, M. L.; HUGHES, M. R.; AGARWAL, S.; DALEY, G. Q. Cellular therapy for Fanconi anemia: the past, present, and future. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.17(1 Suppl), S109-114, 2011.

MacMILLAN, M. L.; WAGNER, J. E. Haematopoietic cell transplantation for Fanconi anaemia - when and how? **British Journal of Haematology**, v.149, n.1, p.14-21, 2010.

MAGDALENA, N.; PILONETTO, D. V.; BITENCOURT, M. A.; PEREIRA, N. F.; RIBEIRO, R. C.; JENG, M.; PASQUINI, R. Frequency of Fanconi anemia in Brazil and efficacy of screening for the FANCA 3788-3790del mutation. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.38, n.5, 669-673, 2005.

MAJHAIL, N. S.; BRAZAUSKAS, R.; RIZZO, J. D.; SOBECKS, R. M.; WANG, Z.; HOROWITZ, M. M.; BOLWELL, B.; WINGARD, J. R.; SOCIE, G. Secondary solid cancers after allogeneic hematopoietic cell transplantation using busulfan-cyclophosphamide conditioning. **Blood**, v.117, n.1, p.316-322, 2011.

MAJHAIL, N. S.; CHALLA, T. R.; MULROONEY, D. A.; BAKER, K. S.; BURNS, L. J. Hypertension and diabetes mellitus in adult and pediatric survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.15, n.9, p.1100-1107, 2009a.

MAJHAIL, N. S.; DEFOR, T.; LAZARUS, H. M.; BURNS, L. J. High prevalence of iron overload in adult allogeneic hematopoietic cell transplant survivors. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.14, n.7, p.790-794, 2008.

MAJHAIL, N. S.; FLOWERS, M. E.; NESS, K. K.; JAGASIA, M.; CARPENTER, P. A.; ARORA, M.; ARAI, S.; JOHNSTON, L.; MARTIN, P. J.; BAKER, K. S.; LEE, S. J.; BURNS, L. J. High prevalence of metabolic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Bone Marrow Transplantation**, v.43, n.1, p.49-54, 2009b.

MAJHAIL, N. S.; RIZZO, J. D.; LEE, S. J.; ALJURF, M.; ATSUTA, Y.; BONFIM, C.; BURNS, L. J.; CHAUDHRI, N.; DAVIES, S.; OKAMOTO, S.; SEBER, A.; SOCIE, G.; SZER, J.; VAN LINT, M. T.; WINGARD, J. R.; TICHELLI, A.; CENTER FOR INTERNATIONAL BLOOD AND MARROW TRANSPLANT RESEARCH (CIBMTR); AMERICAN SOCIETY FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION (ASBMT); EUROPEAN GROUP FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION (EBMT); ASIA-PACIFIC BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION GROUP (APBMT); BONE MARROW TRANSPLANT SOCIETY OF AUSTRALIA AND NEW ZEALAND (BMTSANZ); EAST MEDITERRANEAN BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION GROUP (EMBMT); SOCIEDADE BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA (SBTMO). Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.18, n.3, p.348-371, 2012.

MARTIN, P. J.; COUNTS JR, G. W.; APPELBAUM, F. R.; LEE, S. J.; SANDERS, J. E.; DEEG, H. J.; FLOWERS, M. E.; SYRJALA, K. L.; HANSEN, J. A.; STORB, R. F.; STORER, B. E. Life expectancy in patients surviving more than 5 years after hematopoietic cell transplantation. **Journal of Clinical Oncology**, v.28, n.6, p.1011-1016, 2010.

MASSEROT, C.; PEFFAULT DE LATOUR, R.; ROCHA, V.; LEBLANC, T.; RIGOLET, A.; PASCAL, F.; JANIN, A.; SOULIER, J.; GLUCKMAN, E.; SOCIÉ, G. Head and neck squamous cell carcinoma in 13 patients with Fanconi anemia after hematopoietic stem cell transplantation. **Cancer**, v.113, n.12, p.3315-3322, 2008.

MATTIOLI, T. M. F.; KOUBIK, A. C.; DE OLIVEIRA RIBAS, M.; FRANÇA, B. H. S.; BRANCHER, J. A.; DE LIMA, A. A. S. Salivary flow rate, calcium, urea, total protein, and amylase levels in fanconi anemia. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v.32, n.2, p.e46-49, 2010.

MEYER, S.; NEITZEL, H.; TÖNNIES, H. Chromosomal aberrations associated with clonal evolution and leukemic transformation in fanconi anemia: clinical and biological implications. **Anemia**, v.2012, p.349837, 2012.

MEYER, S. C.; O'MEARA, A.; BUSER, A. S.; TICHELLI, A.; PASSWEG, J. R.; STERN, M. Prognostic impact of post transplantation iron overload after allogeneic stem cell transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.19, n.3, p.440-444, 2013.

MOLDOVAN, G.-L.; D'ANDREA, A. D. How the fanconi anemia pathway guards the genome. **Annual Review of Genetics**, v.43, p.223-249, 2009.

MYERS, K. C.; DAVIES, S. M. Hematopoietic stem cell transplantation for bone marrow failure syndromes in children. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.15, n.3, p.279-292, 2009.

NABHAN, S. K.; BITENCOURT, M. A.; DUVAL, M.; ABECASIS, M.; DUFOUR, C.; BOUDJEDIR, K.; ROCHA, V.; SOCIÉ, G.; PASSWEG, J.; GOI, K.; SANDERS, J.; SNOWDEN, J.; YABE, H.; PASQUINI, R.; GLUCKMAN, E.; APLASTIC ANAEMIA WORKING PARTY; EBMT. Fertility recovery and pregnancy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia patients. **Haematologica**, v.95, n.10, 1783-1787, 2010.

NEGRIN, R. S. Introduction to the review series on "advances in hematopoietic cell transplantation". **Blood**, v.124, n.3, p.307, 2014.

NEVELING, K.; ENDT, D.; HOEHN, H.; SCHINDLER, D. Genotype-phenotype correlations in Fanconi anemia. **Mutation Research**, v.668, n.1-2, p.73-91, 2009.

NIEDER, M. L.; McDONALD, G. B.; KIDA, A.; HINGORANI, S.; ARMENIAN, S. H.; COOKE, K. R.; PULSIPHER, M. A.; BAKER, K. S. NCI, NHLBI First International Consensus Conference on Late Effects after Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation: Long Term Organ Damage and Dysfunction Following Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.17, n.11, p.1573-1584, 2011.

OLIVEIRA, A. L.; DE SOUZA, M.; CARVALHO-DIAS, V. M.; RUIZ, M. A.; SILLA, L.; TANAKA, P. Y.; SIMÕES, B. P.; TRABASSO, P.; SEBER, A.; LOTFI, C. J.; ZANICHELLI, M. A.; ARAUJO, V. R.; GODOY, C.; MAIOLINO, A.; URAKAWA, P.; CUNHA, C. A.; DE SOUZA, C. A.; PASQUINI, R.; NUCCI, M. Epidemiology of bacteremia and factors associated with multi-drug-resistant gram-negative bacteremia in hematopoietic stem cell transplant recipients. **Bone Marrow Transplantation**, v.39, n.12, p.775-781, 2007.

OOSTRA, A. B.; NIEUWINT, A. W. M.; JOENJE, H.; DE WINTER, J. P. Diagnosis of fanconi anemia: chromosomal breakage analysis. **Anemia**, v.2012, p.238731, 2012.

PARSONS, S. K.; PHIPPS, S.; SUNG, L.; BAKER, K. S.; PULSIPHER, M. A.; NESS, K. K. NCI, NHLBI/PBMTTC First International Conference on Late Effects after Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation: health-related quality of life, functional, and neurocognitive outcomes. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.18, n.2, 162-171, 2012.

PASQUINI, M.; WANG, Z.; HOROWITZ, M. M.; GALE, R. P. 2013 report from the Center for International Blood and Marrow Transplant Research (CIBMTR): current uses and outcomes of hematopoietic cell transplants for blood and bone marrow disorders. **Clinical Transplants**, p.187-197, 2013.

PASQUINI, R.; CARRERAS, J.; PASQUINI, M. C.; CAMITTA, B. M.; FASTH, A. L.; HALE, G. A.; HARRIS, R. E.; MARSH, J. C.; ROBINSON, A. J.; ZHANG, M. J.; EAPEN, M.; WAGNER, J. E. HLA-matched sibling hematopoietic stem cell transplantation for fanconi anemia: comparison of irradiation and nonirradiation containing conditioning regimens. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.14, n.10, p.1141-1147, 2009.

PEFFAULT DE LATOUR, R.; PORCHER, R.; DALLE, J. H.; ALJURF, M.; KORTHOFF, E. T.; SVAHN, J.; WILLEMZE, R.; BARRENETXEA, C.; MIALOU, V.; SOULIER, J.; AYAS, M.; ONETO, R.; BACIGALUPO, A.; MARSH, J. C.; PETERS, C.; SOCIE, G.; DUFOUR, C.; FA COMMITTEE OF THE SEVERE APLASTIC ANEMIA WORKING PARTY; PEDIATRIC WORKING PARTY OF THE EUROPEAN GROUP FOR BLOOD AND MARROW TRANSPLANTATION. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Fanconi anemia: the European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. **Blood**, v.122, n.26, p.4279-4286, 2013.

PERRUCHE, S.; MARANDIN, A.; KLEINCLAUSS, F.; ANGONIN, R.; FRESNAY, S.; BARON, M. H.; TIBERGHEN, P.; SAAS, P. Association of mixed hematopoietic chimerism with elevated circulating autoantibodies and chronic graft-versus-host disease occurrence. **Transplantation**, v.81, n.4, p.573-582, 2006.

PHIPPS, S.; RAI, S. N.; LEUNG, W. H.; LENSING, S.; DUNAVANT, M. Cognitive and academic consequences of stem cell transplantation in children. **Journal of Clinical Oncology**, v.26, n.12, p.2027-2033, 2008.

PILONETTO, D. V.; PEREIRA, N. F.; BITENCOURT, M. A.; MAGDALENA, N. I.; VIEIRA, E. R.; VEIGA, L. B.; CAVALLI, I. J.; RIBEIRO, R. C.; PASQUINI, R. FANCD2 Western blot as a diagnostic tool for Brazilian patients with Fanconi anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.42, n.3, p.237-243, 2009.

PINTO, F. O.; LEBLANC, T.; CHAMOUSSET, D.; LE ROUX, G.; BRETHON, B.; CASSINAT, B.; LARGHERO, J.; DE VILLARTAY, J. P.; STOPPA-LYONNET, D.; BARUCHEL, A.; SOCIÉ, G.; GLUCKMAN, E.; SOULIER, J. Diagnosis of Fanconi anemia in patients with bone marrow failure. **Haematologica**, v.94, n.4, p.487-495, 2009.

POLL, E. H.; ARWERT, F.; JOENJE, H.; ERIKSSON, A. W. Cytogenetic toxicity of antitumor platinum compounds in Fanconi's anemia. **Human Genetics**, v.61, n.3, p.228-230, 1982.

PULSIPHER, M. A.; SKINNER, R.; McDONALD, G. B.; HINGORANI, S.; ARMENIAN, S. H.; COOKE, K. R.; GRACIA, C.; PETRYK, A.; BHATIA, S.; BUNIN, N.; NIEDER, M. L.; DVORAK, C. C.; SUNG, L.; SANDERS, J. E.; KURTZBERG, J.; BAKER, K. S. National Cancer Institute, National Heart, Lung and Blood Institute/Pediatric Blood and Marrow Transplantation Consortium First International Consensus Conference on late effects after pediatric hematopoietic cell transplantation: the need for pediatric-specific long-term follow-up guidelines. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.18, n.3, p.334-347, 2012.

RESTREPO, A. Transplante de médula ósea de trilliza idéntica a paciente con hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) y anemia aplástica. **Acta Médica Colombiana**, v.10, n.4, p.168 -170, 1985.

ROMICK-ROSENDALE, L. E.; LUI, V. W. Y.; GRANDIS, J. R.; WELLS, S. I. The Fanconi anemia pathway: repairing the link between DNA damage and squamous cell carcinoma. **Mutation Research**, n.743-744, p.78-88, 2013.

ROSE, S. R.; MYERS, K. C.; RUTTER, M. M.; MUELLER, R.; KHOURY, J. C.; MEHTA, P. A.; HARRIS, R. E.; DAVIES, S. M. Endocrine phenotype of children and adults with Fanconi anemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v.59, n.4, p.690-696, 2012.

ROSENBERG, P. S.; ALTER, B. P.; EBELL, W. Cancer risks in Fanconi anemia: findings from the German Fanconi Anemia Registry. **Haematologica**, v.93, n.4, p.511-517, 2008.

ROSENBERG, P. S.; ALTER, B. P.; SOCIÉ, G.; GLUCKMAN, E. Secular trends in outcomes for Fanconi anemia patients who receive transplants: implications for future studies. **Biology of Blood and Marrow Transplantation**, v.11, n.9, p.672-679, 2005.

ROSENBERG, P. S.; GREENE, M. H.; ALTER, B. P. Cancer incidence in persons with Fanconi anemia. **Blood**, v.101, n.3, p.822-826, 2003.

ROSENBERG, P. S.; SOCIÉ, G.; ALTER, B. P.; GLUCKMAN, E. Risk of head and neck squamous cell cancer and death in patients with Fanconi anemia who did and did not receive transplants. **Blood**, v.105, n.1, p.67-73, 2005.

ROSENBERG, P. S.; TAMARY, H.; ALTER, B. P. How high are carrier frequencies of rare recessive syndromes? Contemporary estimates for Fanconi Anemia in the United States and Israel. **American Journal of Medical Genetics**, v.155A, n.8, p.1877-1883, 2011.

ROSENFIELD, R. M.; COOKE, D.; COOKE, W.; RADOVICK, S. Puberty and its Disorders in the female. In: SPERLING, M. **Pediatric Endocrinology**. 3rd ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier, 2008. p.562-565.

SANDERS, J. E.; HOFFMEISTER, P. A.; WOOLFREY, A. E.; CARPENTER, P. A.; STORER, B. E.; STORB, R. F.; APPELBAUM, F. R. Thyroid function following hematopoietic cell transplantation in children: 30 years' experience. **Blood**, v.113, n.2, p.306-308, 2009.

SANDERS, J. E.; WOOLFREY, A. E.; CARPENTER, P. A.; STORER, B. E.; HOFFMEISTER, P. A.; DEEG, H. J.; FLOWERS, M. E.; STORB, R. F. Late effects among pediatric patients followed for nearly 4 decades after transplantation for severe aplastic anemia. **Blood**, v.118, n.5, p.1421-1428, 2011.

SCHECKENBACH, K.; MORGAN, M.; FILGER-BRILLINGER, J.; SANDMANN, M.; STRIMLING, B.; SCHEURLLEN, W.; SCHINDLER, D.; GÖBEL, U.; HANENBERG, H. Treatment of the bone marrow failure in Fanconi anemia patients with danazol. **Blood Cells, Molecules & Diseases**, v.48, n.2, p.128-131, 2012.

SHALITIN, S.; PHILLIP, M.; STEIN, J.; GOSHEN, Y.; CARMİ, D.; YANIV, I. Endocrine dysfunction and parameters of the metabolic syndrome after bone marrow transplantation during childhood and adolescence. **Bone Marrow Transplantation**, v.37, n.12, p.1109-1117, 2006.



SHIMAMURA, A.; ALTER, B. P. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. **Blood Reviews**, v.24, n.3, p.101-122, 2010.

SHIMAMURA, A.; MONTES DE OCA, R.; SVENSON, J. L.; HAINING, N.; MOREAU, L. A.; NATHAN, D. G.; D'ANDREA, A. D. A novel diagnostic screen for defects in the Fanconi anemia pathway. **Blood**, v.100, n.13, p.4649-4654, 2002.

SKLAVOS, M. M.; GIRI, N.; STRATTON, P.; ALTER, B. P.; PINTO, L. A. Anti-Müllerian hormone deficiency in females with Fanconi anemia. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.99, n.5, p.1608-1614, 2014.

SOCIÉ, G.; DEVERGIE, A.; GIRINSKI, T.; PIEL, G.; RIBAUD, P.; ESPEROU, H.; PARQUET, N.; MAAREK, O.; NOGUERA, M. H.; RICHARD, P.; BRISON, O.; GLUCKMAN, E. Transplantation for Fanconi's anaemia: long-term follow-up of fifty patients transplanted from a sibling donor after low-dose cyclophosphamide and thoraco-abdominal irradiation for conditioning. **British Journal of Haematology**, v.103, n.1, p.249-255, 1998.

SOCIÉ, G.; RITZ, J. Current issues in chronic graft-versus-host disease. **Blood**, v.124, n.3, p.374-384, 2014.

SOULIER, J. Fanconi anemia. **Hematology/the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program**, v.2011, p.492-497, 2011.

STEWART, B. L.; STORER, B.; STOREK, J.; DEEG, H. J.; STORB, R.; HANSEN, J. A.; APPELBAUM, F. R.; CARPENTER, P. A.; SANDERS, J. E.; KIEM, H. P.; NASH, R. A.; PETERSDORF, E. W.; MORAVEC, C.; MORTON, A. J.; ANASETTI, C.; FLOWERS, M. E.; MARTIN, P. J. Duration of immunosuppressive treatment for chronic graft-versus-host disease. **Blood**, v.104, n.12, p.3501-3506, 2004.

STRATHDEE, C. A.; DUNCAN, A. M.; BUCHWALD, M. Evidence for at least four Fanconi anaemia genes including FACC on chromosome 9. **Nature Genetics**, v.1, n.3, p.196-198, 1992.

SUNG, A. D.; CHAO, N. J. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. **Stem Cells Translational Medicine**, v.2, n.1, p.25-32, 2013.

SVENBERG, P.; MATTSSON, J.; RINGDÉN, O.; UZUNEL, M. Allogeneic hematopoietic SCT in patients with non-malignant diseases, and importance of chimerism. **Bone Marrow Transplantation**, v.44, n.11, p.757-763, 2009.

TANIGUCHI, T.; D'ANDREA, A. D. Molecular pathogenesis of Fanconi anemia: recent progress. **Blood**, v.107, n.11, p.4223-4233, 2006.

THAKAR, M. S.; BONFIM, C.; SANDMAIER, B. M.; O'DONNELL, P.; RIBEIRO, L.; GOOLEY, T.; DEEG, H. J.; FLOWERS, M. E.; PASQUINI, R.; STORB, R.; WOOLFREY, A. E.; KIEM, H. P. Cyclophosphamide-Based In Vivo T-Cell Depletion for HLA-Haploidentical Transplantation in Fanconi Anemia. **Pediatric Hematology-Oncology**, v.29, n.6, p.568-578, 2012.

TICHELLI, A.; SCHREZENMEIER, H.; SOCIÉ, G.; MARSH, J.; BACIGALUPO, A.; DÜHRSEN, U.; FRANZKE, A.; HALLEK, M.; THIEL, E.; WILHELM, M.; HÖCHSMANN, B.; BARROIS, A.; CHAMPION, K.; PASSWEG, J. R. A randomized controlled study in patients with newly diagnosed severe aplastic anemia receiving antithymocyte globulin (ATG), cyclosporine, with or without G-CSF: a study of the SAA Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. **Blood**, v.117, n.17, p.4434-4441, 2011.

TOLAR, J.; ADAIR, J. E.; ANTONIOU, M.; BARTHOLOMAE, C. C.; BECKER, P. S.; BLAZAR, B. R.; BUEREN, J.; CARROLL, T.; CAVAZZANA-CALVO, M.; CLAPP, D. W.; DALGLEISH, R.; GALY, A.; GASPAR, H. B.; HANENBERG, H.; VON KALLE, C.; KIEM, H. P.; LINDEMAN, D.; NALDINI, L.; NAVARRO, S.; RENELLA, R.; RIO, P.; SEVILLA, J.; SCHMIDT, M.; VERHOEYEN, E.; WAGNER, J. E.; WILLIAMS, D. A.; THRASHER, A. J. Stem cell gene therapy for fanconi anemia: report from the 1st international Fanconi anemia gene therapy working group meeting. **Molecular Therapy**, v.19, n.7, p.1193-1198, 2011.

TRIVIN, C.; GLUCKMAN, E.; LEBLANC, T.; COUSIN, M.-N.; SOULIER, J.; BRAUNER, R. Factors and markers of growth hormone secretion and gonadal function in Fanconi anemia. **Growth Hormone & IGF Research**, v.17, n.2, 122-129, 2007.

UBERTI, J. P.; AGOVI, M. A.; TARIMA, S.; HAAGENSON, M.; GANDHAM, S.; ANASETTI, C.; BAKER, K. S.; BOLWELL, B. J.; BORNHAUSER, M.; CHAN, K. W.; COPELAN, E.; DAVIES, S. M.; FINKE, J.; HALE, G. A.; KOLLMAN, C.; McCARTHY, P. L.; RATANATHARATHORN, V.; RINGDÉN, O.; WEISDORF, D. J.; RIZZO, J. D. Comparative analysis of BU and CY versus CY and TBI in full intensity unrelated marrow donor transplantation for AML, CML and myelodysplasia. **Bone Marrow Transplantation**, v.46, n.1, p.34-43, 2011.

UDERZO, C.; PILLON, M.; TRIDELLO, G.; DINI, G.; URBAN, C.; CORTI, P.; ZINTL, F.; FAGIOLI, F.; MESSINA, C.; VERDEGUER, A.; FARACI, M.; FEDELI, S.; TANA, F.; TICHELLI, A.; PASSWEG, J.; ROVELLI, A. Cardiac and pulmonary late effects do not negatively influence performance status and non-relapse mortality of children surviving five yr after autologous hematopoietic cell transplantation: report from the EBMT Paediatric Diseases and Late Effects Workin. **Pediatric Transplantation**, v.13, n.6, p.719-724, 2009.

van ZEEBURG, H. J.; SNIJDERS, P. J.; WU, T.; GLUCKMAN, E.; SOULIER, J.; SURRALLES, J.; CASTELLA, M.; VAN DER WAL, J. E.; WENNERBERG, J.; CALIFANO, J.; VELLEUER, E.; DIETRICH, R.; EBELL, W.; BLOEMENA, E.; JOENJE, H.; LEEMANS, C. R.; BRAKENHOFF, R. H. Clinical and molecular characteristics of squamous cell carcinomas from Fanconi anemia patients. **Journal of the National Cancer Institute**, v.100, n.22, p.1649-1653, 2008.

VIGORITO, A. C.; CAMPREGHER, P. V.; STORER, B. E.; CARPENTER, P. A.; MORAVEC, C. K.; KIEM, H. P.; FERRO, M. L.; WARREN, E. H.; LEE, S. J.; APPELBAUM, F. R.; MARTIN, P. J.; FLOWERS, M. E.; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. Evaluation of NIH consensus criteria for classification of late acute and chronic GVHD. **Blood**, v.114, n.3, 702-708, 2009.

WAGNER, J. E.; EAPEN, M.; MacMILLAN, M. L.; HARRIS, R. E.; PASQUINI, R.; BOULAD, F.; ZHANG, M. J.; AUERBACH, A. D. Unrelated donor bone marrow transplantation for the treatment of Fanconi anemia. **Blood**, v.109, n.5, p.2256-2262, 2007.

WAJNRAJCH, M. P.; GERTNER, J. M.; HUMA, Z.; POPOVIC, J.; LIN, K.; VERLANDER, P. C.; BATISH, S. D.; GIAMPIETRO, P. F.; DAVIS, J. G.; NEW, M. I.; AUERBACH, A. D. Evaluation of Growth and Hormonal Status in Patients Referred to the International Fanconi Anemia Registry. **Pediatrics**, v.107, n.4, p.744-754, 2001.

WHITNEY, M. A.; SAITO, H.; JAKOBS, P. M.; GIBSON, R. A.; MOSES, R. E.; GROMPE, M. A common mutation in the FACC gene causes Fanconi anaemia in Ashkenazi Jews. **Nature Genetics**, v.4, n.2, p.202-205, 1993.

WINGARD, J. R.; MAJHAIL, N. S.; BRAZAUSKAS, R.; WANG, Z.; SOBOCINSKI, K. A.; JACOBSON, D.; SORROR, M. L.; HOROWITZ, M. M.; BOLWELL, B.; RIZZO, J. D.; SOCIÉ, G. Long-term survival and late deaths after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Journal of Clinical Oncology**, v.29, n.16, p.2230-2239, 2011.

WONG, F. L.; FRANCISCO, L.; TOGAWA, K.; BOSWORTH, A.; GONZALES, M.; HANBY, C.; SABADO, M.; GRANT, M.; FORMAN, S. J.; BHATIA, S. Long-term recovery after hematopoietic cell transplantation: predictors of quality-of-life concerns. **Blood**, v.115, p.2508-2519, 2010.

WONG, W. M.; PARVATHANENI, U.; JEWELL, P. D.; MARTINS, R. G.; FUTRAN, N. D.; LARAMORE, G. E.; LIAO, J. J. Squamous cell carcinoma of the oral tongue in a patient with Fanconi anemia treated with radiotherapy and concurrent cetuximab: a case report and review of the literature. **Head & Neck**, v.35, n.10, p.E292-298, 2013.

YATES, J.; KEEBLE, W.; PALS, G.; AMEZIANE, N.; VAN SPAENDONK, R.; OLSON, S.; AKKARI, Y.; PASQUINI, R.; BAGBY, G. Novel inactivating mutations of FANCC in Brazilian patients with Fanconi anemia. **Human Mutation**, v.27, n.2, p.214, 2006.

ZANIS-NETO, J.; FLOWERS, M. E.; MEDEIROS, C. R.; BITENCOURT, M. A.; BONFIM, C. M.; SETÚBAL, D. C.; FUNKE, V.; SANDERS, J.; DEEG, H. J.; KIEM, H. P.; MARTIN, P.; LEISENRING, W.; STORB, R.; PASQUINI, R. Low-dose cyclophosphamide conditioning for haematopoietic cell transplantation from HLA-matched related donors in patients with Fanconi anaemia. **British Journal of Haematology**, v.130, n.1, p.99-106, 2005.

## APÊNDICES

## APÊNDICE 1 - CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES QUE MORRERAM ANTES DE COMPLETAREM DOIS ANOS DE TRANSPLANTE

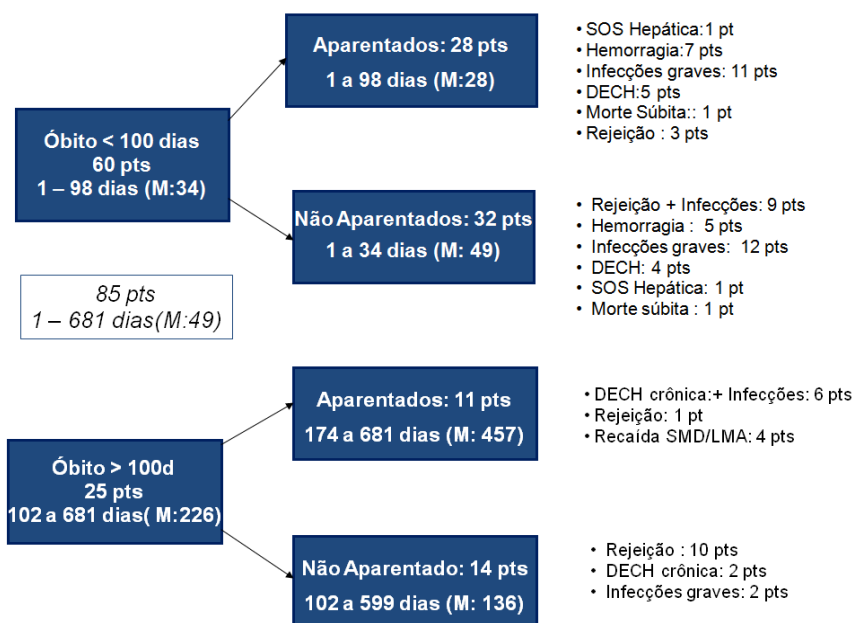
CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES PORTADORES DE AF TRANSPLANTADOS NO STMO HC-UFPR E QUE MORRERAM ANTES DE COMPLETAR DOIS ANOS DE TRANSPLANTE

Número de pacientes	85
Idade	4 a 34 anos (Mediana:10)
Sexo Feminino/Masculino	46/39
Fase da Doença	
Pancitopenia necessidade transfusional	79 pts
Mielodisplasia	3 pts
Leucemia Mieloide Aguda	3 pts
Transfusões prévias	0 – 400 U (Mediana: 22)
Tipo de doador	
Aparentado	30 pts
Outro familiar	9 pts
Não Aparentado	46 pts
Fonte de células-tronco	
Medula Óssea	57 pts
Sangue de cordão	27 pts
Sangue Periférico	1 pt
Regimes de condicionamento	
Ciclofosfamida± Globulina anti-timocítica	40 pts
Ciclofosfamida+ Fludarabina ± Globulina Anti-timocítica	35 pts
Regimes com irradiação corporal total	10 pts
Profilaxia da Doença do Enxerto contra o Hospedeiro	
Ciclosporina ± Metotrexate	62 pts
Ciclosporina e corticoide	14 pts
Outros	9 pts
Mucosite grau III e IV	64%

FONTE: O autor (2014)

NOTA: pts: Pacientes.

CAUSAS DE ÓBITO NOS 85 PACIENTES QUE MORRERAM ANTES DE COMPLETAR DOIS ANOS DE TRANSPLANTE



FONTE: O AUTOR (2014)

NOTA: PTS: Pacientes; SOS: Síndrome de obstrução sinusoidal; DECH: Doença do enxerto contra o hospedeiro; SMD: Síndrome mielodisplásica; LMA: Leucemia mieloide aguda.

## APÊNDICE 2 - TRIAGEM DAS MUTAÇÕES EM PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI: ESTRATÉGIA ADOTADA PELO LABORATÓRIO DE IMUNOGENÉTICA DO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UFPR

A estratégia adotada para a investigação molecular dos pacientes AF brasileiros e determinação do grupo de complementação teve início com a pesquisa direta de onze mutações previamente descritas nos genes *FANCA* (cinco mutações), *FANCC* (quatro mutações) e *FANCG* (duas mutações) que compõem o painel inicial de triagem. Os pacientes identificados em homozigose tem o subtipo genético definido já nesta etapa. Aqueles identificados em heterozigose, a segunda mutação envolvida é investigada primeiramente por MLPA (*Multiplex Ligation Probe Amplification*), para a pesquisa de grandes deleções no gene *FANCA* e pelo sequenciamento do gene inicialmente envolvido (*FANCA* ou *FANCC* ou *FANCG*).

PAINEL INICIAL PARA A TRIAGEM DE MUTAÇÕES EM PACIENTES AF BRASILEIROS

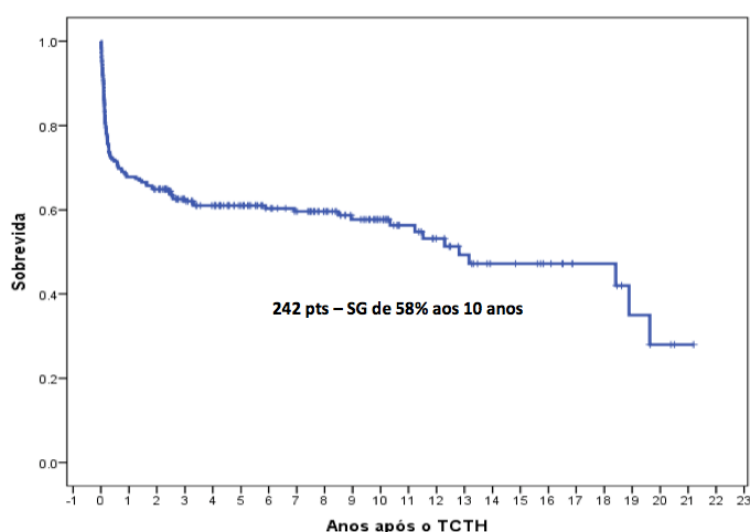
MUTAÇÃO	LOCALIZAÇÃO	GENE	REFERÊNCIAS
c.987_990delTCAC	Exon 11	<i>FANCA</i>	Levrán <i>et al.</i> (1997)
c.2535_2536delCT	Exon 27	<i>FANCA</i>	Levrán <i>et al.</i> (1997)
c. 2853-19del19	29i	<i>FANCA</i>	Levrán <i>et al.</i> (1997)
c.3788_3790delTCT	Exon 38	<i>FANCA</i>	Levrán <i>et al.</i> (1997)
c.1115_1118delTTGG	Exon 13	<i>FANCA</i>	Apostolou <i>et al.</i> (1996)
c.1393 C>T	Exon 13	<i>FANCC</i>	Yates <i>et al.</i> (2006)
c.65G>A	Exon 1	<i>FANCC</i>	Whitney <i>et al.</i> (1993)
c.456+4 A>T	04i	<i>FANCC</i>	Gibson <i>et al.</i> (1996)
c. 67delG	Exon 1	<i>FANCC</i>	Strathdee; Duncan; Buchwald (1992)
c.1077-2A>G	08i	<i>FANCG</i>	Demuth <i>et al.</i> (2000)
c.1480+1G>C	Exon 11	<i>FANCG</i>	Auerbach <i>et al.</i> (2003)

FONTE: O autor (2014)

NOTA: Daniela Pilonetto - Responsável pela realização do painel de triagem de mutações em pacientes brasileiros com AF

### APÊNDICE 3 – SOBREVIDA GLOBAL DE TODOS OS PACIENTES SUBMETIDOS AO TCTH POR ANEMIA DE FANCONI ENTRE NOVEMBRO DE 1983 A DEZEMBRO DE 2011

Dos 242 pacientes transplantados entre novembro de 1983 a dezembro de 2011, a sobrevida global foi de 58% aos 10 anos, conforme ilustrado na Figura abaixo.



SOBREVIDA GLOBAL NOS 242 PACIENTES SUBMETIDOS AO TCTH ENTRE 1983 E 2011

FONTE: O autor (2014)

NOTAS: TCTH: Transplante de Células-tronco Hematopoéticas.

Teste Estatístico: Curva de Sobrevida: Método de Kaplan Meier.



## **APÊNDICE 4 - DESCRIÇÃO DETALHADA DOS CASOS DE CÂNCER IDENTIFICADOS NO ESTUDO**

### **1. Carcinoma Basocelular: Dois pacientes**

Um paciente do sexo masculino de 26 anos, com história de exposição solar e pele clara desenvolveu esta complicação imediatamente pré-TCTH. A lesão foi retirada cirurgicamente antes do início do condicionamento e não houve recidiva nos últimos quatro anos.

A outra paciente desenvolveu este tumor aos 27 anos de idade (três anos após o transplante) em vigência de DECH crônica grave. A lesão acometeu a região nasal, sendo retirada cirurgicamente. Apresentou duas recidivas no mesmo local, que foram tratadas cirurgicamente e três meses depois apresentou lesões no braço cujo diagnóstico histopatológico confirmou uma doença de Bowen (CEC restrito à epiderme). Esta mesma paciente apresentou um CEC de cavidade oral um ano após o diagnóstico destes tumores.

### **2. Doenças linfoproliferativas: dois pacientes**

Uma paciente de 12 anos de idade foi submetida a um TMO não aparentado compatível em julho de 2007, desenvolveu uma DECH crônica grave sendo tratada com vários imunossupressores até agosto de 2010. Um ano após o término da imunossupressão, apresentou um nódulo em axila cuja biópsia confirmou um Linfoma de Hodgkin (linfoma clássico, subtipo interfolicular, variante celularidade mista). Os marcadores mostraram a presença de CD15 e CD30+ nas células neoplásicas e CD20+ nos centros germinativos. O PCR para EBV foi positivo no sangue (negativo na biópsia) e o HIV da paciente era negativo. Após a investigação o estadió clínico foi considerado 1A e iniciado quimioterapia com esquema VAMP (vinblastina, adriamicina, metotrexate e corticóide). Foram realizados três ciclos de quimioterapia com resposta parcial e sem toxicidade importante. A paciente recebeu 4 doses de Rituximab 375mg/m<sup>2</sup> com resposta completa e encontra-se em remissão desde então.

Uma paciente de oito anos de idade recebeu um Transplante de Sangue de Cordão Umbilical não aparentado em abril de 2003 e foi tratada por um tempo prolongado com corticoide devido a uma suspeita de DECH crônica de fígado. Oito meses pós-transplante, ainda em uso de corticoide apresentou um nódulo

submentoniano cuja biópsia revelou um linfoma difuso de grandes células B, imunoblástico, CD20+ CD3+ CD30+ KAPPA. O estadio clínico foi 1A e a criança foi tratada apenas com quatro doses de Rituximab 375mg/m<sup>2</sup> atingindo remissão completa e permanecendo em remissão desde então. Como sequela do tratamento apresenta hipogamaglobulinemia desde o término do tratamento (IgG menor que 200mg/dl), sem infecções clínicas e sem necessidade de reposição.

### 3. Tumor cerebral: uma paciente

Uma paciente de 19 anos de idade apresentou um quadro súbito de hemiplegia a direita, 12 anos após um transplante aparentado totalmente compatível. Uma imagem sugestiva de um glioblastoma multiforme foi encontrada na tomografia de crânio (lesão expansiva frontal à esquerda com necrose central e edema perilesional sugestivo de neoplasia maligna de alto grau de malignidade). A paciente recebeu tratamento com dexametasona e foi operada na cidade de origem evoluindo para o óbito no período pós-operatório. Não foi possível resgatar o bloco histológico para fazer a confirmação do tipo de tumor cerebral.

## APÊNDICE 5 - DESCRIÇÃO DAS ANOMALIAS CONGÊNITAS DETECTADAS NESTE ESTUDO

1. Cinco pacientes apresentavam malformações congênitas ao nascimento com atresia de esôfago, duodeno ou ânus imperfurado. Nenhum destes pacientes apresentou complicações gastrointestinais no período pós-transplante.
2. Seis pacientes apresentaram malformações cardíacas como comunicações interatrial, interventricular ou persistência do canal arterial. Nenhum deles apresentou complicações após os dois anos de transplante.
3. As anomalias renais pré existentes foram identificadas em 47 pacientes e encontram-se listadas na tabela abaixo. Apenas os pacientes com refluxo vesico-ureteral e estenose de uretra apresentaram complicações infecciosas após os dois anos de transplante.

ANOMALIAS GENITO-URINÁRIAS EM PACIENTES COM AF

TIPO DE ANOMALIA	NÚMERO DE PACIENTES
Hipoplasia ou Agenesia Renal	8
Rim Pélvico	12
Rim em Ferradura	7
Ectopia Renal	6
Estenose de Uretra/RVU	5
Criptorquidia	4
Micropênis	2
Hipospadia	2
Cistos renais	1

FONTE: O autor (2014)

NOTA: RVU: Refluxo Vesico ureteral.

## **ANEXO - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA**



Curitiba, 10 de novembro de 2009.

Ilmo (a) Sr. (a)  
**Carmem Maria Sales Bonfim**  
Neste

Prezada Pesquisadora:

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "TRANSPLANTE DE CELULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS EM PACIENTES COM ANEMIA DE FANCONI: ANÁLISE DAS COMPLICAÇÕES TARDIAS E DOS FATORES QUE INFLUENCIAM A SOBREVIDA LONGA", foi analisado COM PENDÊNCIA pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, em reunião realizada no dia 29 de setembro de 2009. Após, analisadas as respostas das pendências encaminhadas pelo pesquisador, este CEP/HC considera o protocolo aprovado em 10 de novembro de 2009. O referido projeto atende aos aspectos das Resoluções CNS 196/96, e demais, sobre Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa Envolvendo Seres Humanos do Ministério da Saúde.

CAAE: 0235.0.208.000-09  
CEP: 2028.195/2009-09

Conforme a Resolução 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do primeiro relatório: 10 de maio de 2010.

Atenciosamente,

**Renato Tambara Filho**  
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa  
em Seres Humanos do Hospital de Clínicas/UFPR